

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 097**

51 Int. Cl.:

A21D 2/00	(2006.01)
A21D 2/02	(2006.01)
A21D 2/06	(2006.01)
A23B 9/02	(2006.01)
A21D 13/02	(2006.01)
A21D 6/00	(2006.01)
B02B 1/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2007 PCT/US2007/014053**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2007 WO07149320**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2007 E 07777476 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 2028942**

54 Título: **Producción de harina integral estabilizada**

30 Prioridad:

16.06.2006 US 454758

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.03.2020

73 Titular/es:

**INTERCONTINENTAL GREAT BRANDS LLC
(100.0%)
100 Deforest Avenue
East Hanover, NJ 07936, US**

72 Inventor/es:

**HAYNES, LYNN, C.;
LEVINE, HARRY, IRA;
SLADE, LOUISE;
ZHOU, NING;
MANN, JAMES;
GANNON, DIANE;
HOWEY, EDWARD, D.;
MIHALOS, MIHAELOS, N.;
EPPERSON, C., WILLIAM;
GABRIEL, SARWAT;
CASSONE, DOMENICO y
ZIMMER, JEANNY, E.**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 751 097 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Producción de harina integral estabilizada

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a procesos para elaborar harinas integrales y componentes o ingredientes de salvado para elaborar harinas integrales que presentan una baja rancidez y un período de validez prolongado. La presente invención también se refiere a productos alimenticios, tales como productos horneados preparados a partir de dichas harinas estabilizadas y componentes de salvado estabilizados.

Antecedentes de la invención

Los productos alimenticios que contienen elevados niveles de grano entero están recomendados por las directrices alimentarias de 2005 publicadas por la USDA como constituyentes de la mitad del consumo de cereales por persona, ya que los granos enteros son una buena fuente de nutrientes de interés. Para los adultos, estos nutrientes incluyen calcio, potasio, fibra, magnesio, y vitaminas A (como carotenoides), C, y E. Sin embargo, el consumo de granos enteros se ha retrasado principalmente debido a determinadas calidades de los alimentos de grano entero, tales como el aspecto y la textura gruesos y arenosos del ingrediente de harina de grano entero normalmente disponible para el uso. Más recientemente, las harinas de trigo integrales comerciales se venden con un tamaño de partícula reducido; sin embargo, estas harinas presentan un rendimiento de procesamiento de alimentos muy deficiente en galletas, galletas saladas, cereales para el desayuno y otros productos horneados debido a la fina trituración del grano entero con tamaños de partículas inferiores a 150 micrómetros, dando lugar al daño del almidón. Además, estas harinas trituradas finas tienen una estabilidad de almacenamiento mucho más deficiente que otras harinas integrales de trigo. Se espera que las harinas de trigo integral estabilizadas comerciales que contienen componentes estabilizados tales como salvado y germen tengan una mejor estabilidad durante el almacenamiento. Sin embargo, la funcionalidad de las harinas, especialmente para la producción de galletas, galletas saladas y cereales, por ejemplo, en términos de capacidad de procesamiento mecánico de masa y estiramiento de galletas, se ve afectada en gran medida debido a cantidades significativas de almidón gelatinizado y dañado en la harina.

De forma general, se sabe que las harinas de trigo integrales que contienen salvado y germen son menos estables que las harinas de trigo refinadas. El almacenamiento de las harinas de trigo integrales durante un período de tan solo 30 días a 75 °F puede dar lugar a la aparición de aromas y sabores indeseables en productos fabricados con la harina integral. En paralelo con la aparición de malos sabores se produce un aumento en la cantidad de ácidos grasos libres en las harinas, correlacionado con un aumento de la tasa de absorción de oxígeno de las harinas y la formación de los componentes oxidativos de rancidez. La disminución del tamaño de partícula aumenta la velocidad y la extensión del deterioro de los componentes del grano. El tratamiento con calor y humedad se utiliza habitualmente para inactivar enzimas responsables del deterioro de la harina, aunque se ha demostrado recientemente que contribuyen a la rancidez oxidativa medido por la formación de hexanal, un marcador habitual utilizado para detectar la rancidez oxidativa, en harina de avena. Se cree que este aumento de la rancidez oxidativa se debe a la desintegración de las estructuras celulares que tienden a estabilizar los lípidos, o a la inactivación de antioxidantes lábiles frente al calor.

El enranciamiento en productos de cereales puede deberse a reacciones de degradación hidrolítica (enzimática) u oxidativa, o ambas. A menudo, la hidrólisis puede predisponer a los productos al posterior enranciamiento oxidativo. La naturaleza ha proporcionado numerosos rasgos protectores a las semillas para prevenir el enranciamiento y el deterioro, permitiendo a las semillas sobrevivir a periodos de condiciones adversas antes de alcanzar un entorno adecuado para la germinación y el crecimiento. Es menos probable que aparezca enranciamiento cuando los materiales lípidos, por ejemplo, aceite de semillas, no pueden interactuar con reactivos o catalizadores tales como aire y enzimas. Un rasgo protector de los granos de cereales es la provisión de compartimentos separados para almacenar lípidos y enzimas de forma que no puedan interactuar.

La molienda de los granos de cereales supone destruir los compartimentos separados, el salvado, el germen y el endospermo, de forma que los componentes lípidos y enzimáticos del grano pueden interactuar, aumentando en gran medida la aparición de enranciamiento. El aumento de la molienda para reducir la arenosidad causada por las partículas de salvado tiende a aumentar el área superficial, reducir la encapsulación natural de los lípidos, y aumentar la interacción entre los lípidos y los componentes enzimáticos, aumentando de esta forma la aparición de enranciamiento.

Por lo tanto, las harinas de extracción alta, esto es, las que contienen cantidades sustanciales de salvado y germen, son menos estables que las harinas blancas. El almacenamiento prolongado de las harinas de extracción alta a menudo conduce a la aparición de enranciamiento. El enranciamiento incluye factores de calidad adversos derivados directa o indirectamente de las reacciones con los lípidos endógenos, que producen una reducción en la calidad de horneado de la harina, sabores y olores desagradables, y/o propiedades funcionales inaceptables. Una razón principal para la aparición de enranciamiento en las harinas de extracción alta es la degradación enzimática de aceites naturales inestables. En la porción de los granos utilizada para fabricar las harinas de extracción alta existe un importante suministro de aceites naturales inestables. Las harinas blancas, por otra parte, contienen poca

o ninguna cantidad de aceites o grasas naturales inestables porque se fabrican predominantemente a partir de la parte del endospermo de los granos y suelen estar prácticamente exentas de salvado y germen.

Otro motivo de rancidez supone un problema mayor en los productos derivados de harina que contiene salvado y germen y se debe a que el salvado y el germen contienen las enzimas implicadas en la degradación de lípidos catalizada por enzimas. Una de las enzimas, lipasa, produce enranciamiento hidrolítico en productos molturados de trigo natural no germinado. La lipasa se encuentra casi exclusivamente en el componente de salvado. La otra enzima degradadora de lípidos clave, la lipoxigenasa (LPO), está presente casi exclusivamente en el germen y también está implicada en la aparición de rancidez. Por lo tanto, las harinas de trigo que contienen salvado o harinas graham son mucho más susceptibles a la aparición de enranciamiento que las harinas blancas que contienen poca o ninguna cantidad de salvado y germen.

La degradación de lípidos catalizada por enzimas que se produce en las harinas de trigo de extracción alta, que produce enranciamiento en este tipo de harina, se considera producida por la acción de la lipasa seguida por la acción de la LPO. Cuando la lipasa, la enzima que se encuentra casi exclusivamente en la porción del salvado del grano, se activa durante la molienda, reacciona con los aceites inestables que se encuentran de modo natural en el grano y descompone los aceites inestables a sus ácidos grasos libres (FFA). Este proceso puede tardar semanas o incluso meses. A continuación, LPO, la enzima que se encuentra casi exclusivamente en la porción del germen del grano, oxida los FFA en presencia de oxígeno, produciendo productos de degradación volátiles tales como peróxidos que, a su vez, generan aldehídos de rancidez. En ausencia de humedad, la oxidación de los FFA es también un proceso muy lento que puede durar incluso varias semanas hasta que se puedan detectar cantidades perceptibles de los aldehídos de rancidez. Sin embargo, en presencia de humedad, o agua, que se añade normalmente a la harina de trigo en grandes cantidades durante la etapa de amasado, la oxidación catalizada por enzimas de los ácidos grasos libres tiende a proceder en gran medida muy rápidamente, causando la formación de grandes cantidades de aldehídos rancios en un plazo de solo unos pocos minutos.

La publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º 2005/0136173 A1, concedida a Korolchuk, describe un proceso de producción de una harina de trigo integral molida ultrafina y los productos de la misma. Ultrafina se define como que tiene un tamaño de partículas inferior o igual a aproximadamente 150 micrómetros. El proceso es un proceso de molienda de granos de flujo continuo, que incluye las etapas de separar una cantidad de semillas de trigo limpias y atemperadas en una fracción fina, compuesta principalmente de endosperma junto con pequeñas cantidades de salvado y germen residual, y una fracción gruesa, compuesta de salvado, germen y una pequeña cantidad de endosperma residual. La fracción gruesa se tritura a través de un molino, tal como un molino de separación, para formar una fracción gruesa molida ultrafina que tiene un tamaño de partícula menor o igual a aproximadamente 150 micrómetros. Finalmente, la fracción gruesa molida ultrafina se mezcla con la fracción fina para formar la harina de trigo integral molida ultrafina. En el proceso Korolchuk, las dos fracciones se muelen para producir fracciones y una harina de trigo integral molida ultrafina que tiene tamaños de partícula menores o iguales a aproximadamente 150 micrómetros. Según Korolchuk, la harina tiene todo el valor nutricional de las semillas de trigo, manteniendo al mismo tiempo la textura de la harina de trigo refinada y un aspecto similar al de la harina de trigo refinada y, por lo tanto, la harina puede usarse en productos alimenticios tales como productos de panadería y productos alimenticios para aperitivo, en los que se usa, de forma típica, harina de trigo refinada. Sin embargo, la producción de una fracción gruesa con muy poco endosperma residual generalmente requiere un mayor grado de operaciones de molienda y trituración que pueden dañar el almidón e influir negativamente en la capacidad de procesamiento mecánico de la masa y en la producción de galletas. También, la trituración de la fracción gruesa a un tamaño de partículas inferior o igual a aproximadamente 150 micrómetros provoca una mayor interacción entre los lípidos y las enzimas degradadoras de lípidos, lo que produce un aumento de los problemas de rancidez.

La publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º 2006/0073258 A1, concedida a Korolchuk, describe la producción de harina de trigo integral molida ultrafina que tiene todo el valor nutricional de las semillas de trigo, manteniendo al mismo tiempo la textura de la harina de trigo refinada y un aspecto similar al de la harina de trigo refinada. También se describe la producción de una fracción gruesa molida ultrafina que se puede usar como reemplazo y para enriquecer la harina de trigo refinada. Un objetivo del proceso Korolchuk es obtener una harina de trigo integral molida ultrafina que tiene una distribución de tamaño de partículas que satisface las normas de FDA para un producto de harina de trigo refinada de un tamaño de partículas en el que no menos de 98 % pasa a través de un tamiz de 210 micrómetros (malla 70 de EE. UU.). En el proceso Korolchuk, se obtiene una fracción fina molida ultrafina que comprende endosperma y una fracción gruesa que comprende salvado y germen. La fracción gruesa se tritura en un molino de separación para reducir la carga microbiana, y luego se mezcla la fracción gruesa molida ultrafina con la fracción fina molida ultrafina para obtener una harina de trigo integral molida ultrafina. Según Korolchuk, triturando la fracción gruesa en un molino de separación hasta un tamaño de partículas inferior o igual a 500 micrómetros se reduce la carga microbiana. Después de tamizar, se devuelve la fracción gruesa triturada con un tamaño de partículas superior a 500 micrómetros al proceso para una molienda adicional. No se describe una estabilización de un componente de salvado o harina de trigo integral calentando una fracción gruesa que comprende salvado y germen para inactivar la lipasa.

En la publicación de patente japonesa n.º JP-205168451 A se describe que una harina de trigo que tiene un diámetro medio de partículas de 150 a 230 micrómetros y un contenido de ceniza de 0,8 a 1,2 %, no tiene un olor de salvado de trigo de olor grasiento, es rica en valor nutritivo y sabor, y se puede utilizar en la producción de fideos y productos de confitería. No se describe el tratamiento con calor de la harina para inactivar enzimas tales como la lipasa y la lipoxigenasa.

El uso de vapor u otras fuentes de calor para inactivar enzimas tales como la lipasa y la lipoxigenasa en granos enteros se describe en la patente US-4.737.371, concedida Bookwalter, US-5.066.506 concedida a Creighton y col., y US-6.616.957, concedida a Wilhelm y col. Sin embargo, el tratamiento del grano entero requiere, generalmente, una mayor cantidad de enfriamiento y secado de los granos enteros tratados para reducir su contenido de humedad a niveles estables de larga duración desde el punto de vista microbiano. También, el tratamiento de calor con vapor, tal como el empleado en la patente US-4.737.371, concedida a Bookwalter, tiende a gelatinizar sustancialmente el almidón de las bayas o no inactiva de forma sustancialmente completa la lipasa ni la LPO.

En Bookwalter, la patente US-4.737.371, el tratamiento con vapor durante un período de tiempo de 4-12 minutos reduce "solo significativamente" la actividad de la lipasa pero no inactiva sustancialmente la lipasa. Cuando se trata con vapor en condiciones suficientes para inactivar sustancialmente la lipasa y la LPO, el vapor penetra en las bayas y gelatiniza una cantidad sustancial de almidón en el endosperma interior de las bayas. La humedad del vapor induce la gelatinización del almidón de las bayas, cuando se combina con el calor aportado al interior de las bayas por el vapor. La humedad excesiva que penetra en las bayas durante la generación de vapor también requiere períodos de secado largos para reducir el contenido de humedad a un nivel aceptable para la molienda.

En una realización, la patente US-4.737.371, concedida a Bookwalter describe que, en el caso de cereales de grano grande y los que de cualquier otra manera se desgerminan fácilmente, tal como el maíz y el trigo, sería ventajoso moler en primer lugar el grano y a continuación tratar solamente el germen separado con vapor, de modo que el equipo y los costes de procesamiento serían mínimos. Después de eso, se describe que el germen puede recombinarse con el endosperma. El término "entero" utilizado por Bookwalter significa que tanto el endosperma como el germen están presentes, aunque la cáscara, la cascarilla y las capas de salvado pueden haberse retirado previamente. Sin embargo, el producto combinado, aunque se denomina producto de grano entero, no contiene salvado en las proporciones naturales presentes en el grano entero original.

En US-2005/255219 se describen métodos de tratamiento de granos de trigo diseñados para reducir la cantidad de enzimas activas en un grano de trigo molido. El tratamiento involucra tratar una porción del grano de trigo que incluye uno o más de salvado de trigo o germen de trigo para desactivar las enzimas.

En la patente US-5.066.506, concedida a Creighton y col., se emplea un tratamiento de tiempo reducido (de 30 segundos a 60 segundos), alta temperatura (de 400 °F a 650 °F) y alta presión (de 50 psig a 70 psig) de la semilla de grano entero para inactivar las enzimas involucradas en el desarrollo de la rancidez. La gelatinización del almidón puede ser de hasta 40 % del almidón total de la semilla, lo que puede disminuir la capacidad de procesamiento mecánico de la masa y el estiramiento de la galleta. También, las altas temperaturas y presiones empleadas tenderían a incrementar la producción de acrilamida y la destrucción de vitaminas.

En la patente US-6.616.957, concedida a Wilhelm y col., se irradian bayas de trigo enteras que tiene un contenido de humedad de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 20 % en peso con energía de infrarrojos (IR), las bayas se mantienen de forma opcional a una temperatura elevada de aproximadamente 80 °C a aproximadamente 110 °C durante un período de tiempo de hasta aproximadamente una hora, y las bayas tratadas se enfrían, se secan y se trituran. El contenido de humedad de las bayas se puede ajustar mediante humectación o atemperado de las bayas antes del tratamiento con energía de IR. El contenido de humedad, las condiciones de atemperado opcionales, la cantidad de energía IR irradiada, la temperatura elevada y los diversos períodos de tratamiento son suficientes para inactivar la lipasa y la lipoxigenasa de las bayas, pero es insuficiente para gelatinizar más de aproximadamente 20 % del almidón de las bayas.

Las harinas integrales de trigo que tienen un alto grado de daño del almidón y/o un alto grado de gelatinización pueden ser aceptables para cereales para el desayuno listos para consumir u otras aplicaciones donde se desea una sensación crujiente, pero la formación de masa, el laminado o el corte o el estiramiento en el horno durante el horneado no suponen ningún problema. La presente invención proporciona un proceso para elaborar harinas de trigo integrales estabilizadas que contienen proporciones naturales de salvado, germen y endosperma con niveles bajos de daño del almidón debido a la abrasión y a los niveles bajos de gelatinización del almidón debido al tratamiento con calor y con humedad. Las harinas de trigo integrales estabilizadas de la presente invención tienen funcionalidades de masa y horneado parecidas a las de la harina de trigo blanca refinada. Se pueden usar en la producción coherente de masas con alta capacidad de procesamiento mecánico y laminables para fabricar productos horneados tales como galletas, galletas saladas, y aperitivos con excelente estiramiento en el horno y excelente aspecto y sin una sensación en boca arenosa.

La presente invención proporciona harina de trigo integral estabilizada y un componente de salvado estabilizado que presenta una absorción de carbonato de sodio-agua inesperadamente baja y un período de validez inesperadamente largo, con un contenido de ácido graso libre y un contenido de hexanal al cabo de 1 mes o más inesperadamente bajo en condiciones de almacenamiento aceleradas. Se consigue un elevado nivel de inactivación de enzimas, reteniendo niveles inesperadamente elevados de nutrientes esenciales, tales como antioxidantes y vitaminas que se pierden durante los tratamientos de estabilización a alta temperatura. Además, la formación de acrilamida se controla a niveles inesperadamente bajos utilizando las condiciones de estabilización de la presente invención.

La presente invención también proporciona un método de estabilización de bayas de trigo enteras o granos enteros que cumple con la directriz de identidad para el etiquetado de ingredientes propuesta por la FDA y la AACCI para identificar el

ingrediente como “integral”. Como ha indicado la Food and Drug Administration de los Estados Unidos en el proyecto de directrices del 15 de febrero de 2006, y como se usa en la presente descripción, el término “grano entero” incluye granos de cereales que consisten en el fruto intacto, triturado, partido o en forma de copos de los granos cuyos componentes principales -el endosperma feculoso, el germen y el salvado- están presentes en las mismas proporciones relativas en que existen en el grano intacto. Esta definición es casi la misma que la definición de AACCI International según la cual “los granos enteros consistirán en la cariósida intacta, triturada, fracturada o en copos, cuyos componentes anatómicos principales: el endosperma feculoso, germen y salvado están presentes en las mismas proporciones relativas en que existen en la cariósida intacta”, que se aprobó en 1999 y es aplicable en la presente descripción. La FDA reseñó que dichos granos pueden incluir cebada, alforfón, trigo bulgur, maíz, mijo, arroz, centeno, avena, sorgo, trigo y arroz silvestre. Aunque esta invención se ilustra principalmente con referencia a las bayas de trigo, así como maíz, arroz y avena, se apreciará que también se contemplan otros granos de cereal dentro del alcance de diversos o determinados aspectos de la invención. Los ejemplos de otros granos enteros que se pueden procesar según diversas o determinadas realizaciones de la presente invención incluyen, por ejemplo, arroz silvestre, centeno, cebada, alforfón, trigo bulgur, mijo, sorgo, y lo similar.

15 Sumario de la invención

En un aspecto, la invención comprende un método para preparar una harina integral estabilizada. El método comprende someter una fracción gruesa que comprende salvado, germen y almidón a trituración o molienda para reducir la arenosidad de la fracción gruesa sin dañar el almidón, siendo la cantidad de salvado al menos 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa; estabilizar la fracción gruesa calentando la fracción gruesa para reducir la actividad de lipasa de la fracción gruesa, en donde la fracción gruesa triturada estabilizada tiene una entalpía de fusión del almidón superior a 4 J/g, con respecto al peso del almidón en la fracción gruesa triturada estabilizada, medida mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), a una temperatura máxima de 65 °C a 70 °C, y una capacidad de retención de disolvente de carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 200 %; y combinar la fracción gruesa estabilizada con una fracción fina que comprende endosperma para obtener una harina integral estabilizada, en donde dicha harina de trigo integral estabilizada tiene una capacidad de retención de disolvente de carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 85 %, en donde la fracción fina no se somete a estabilización, para evitar la gelatinización sustancial del almidón y la estabilización de la fracción gruesa por calentamiento evita la gelatinización sustancial del almidón contenido en la fracción gruesa.

En un segundo aspecto, la invención comprende una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida que comprende salvado, germen y almidón, siendo la cantidad de salvado al menos 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa. La fracción gruesa triturada tiene una distribución de tamaño de partículas de al menos 40 % en peso de la fracción que tiene un tamaño de partículas de al menos 149 micrómetros y teniendo menos de o igual a 35 % en peso un tamaño de partículas mayor o igual que 500 micrómetros; una actividad de lipasa inferior a 3 micromoles de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramos del componente de salvado; un contenido de acrilamida inferior o igual a 150 ppb, con respecto al peso del componente de salvado; una entalpía de fusión del almidón superior a 4 J/g, con respecto al peso de almidón en la fracción gruesa triturada, medida mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), a una temperatura máxima de 65 °C a 70 °C; y una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 200 %.

También se describe un componente de salvado estabilizado y una harina integral estabilizada que contiene el componente, tal como harina de trigo integral, que presenta una funcionalidad de horneado de galleta dulce inesperadamente superior, que se producen sometiendo una fracción gruesa enriquecida con salvado que comprende salvado, germen y almidón a trituración o molienda para reducir la arenosidad de la fracción gruesa, sin dañar sustancialmente el almidón debido a la abrasión. La fracción gruesa puede estabilizarse calentando la fracción gruesa antes, durante o después de la trituración o molienda. En algunos aspectos de la descripción, la estabilización puede realizarse mediante cualquier combinación de calentamiento antes, durante y después de la trituración y la molienda. Preferiblemente, la estabilización se realiza después de la trituración o la molienda de la fracción gruesa. La estabilización reduce sustancialmente la actividad de lipasa y lipoxigenasa de la fracción gruesa, sin una gelatinización sustancial del almidón. Se mantienen niveles inesperadamente altos de antioxidantes y vitaminas naturales, tales como tocoferoles, tiamina y riboflavina, con niveles inesperadamente bajos de formación de acrilamida durante la estabilización. La fracción gruesa estabilizada o componente de salvado estabilizado puede combinarse con una fracción fina que contiene predominantemente endosperma, para obtener una harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada. En algunos aspectos de la descripción, la fracción fina puede contener endosperma o almidón en una cantidad de al menos aproximadamente 90 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 92 % en peso a aproximadamente 95 % en peso de sólidos, con respecto al peso de la fracción fina. La harina integral estabilizada contiene endosperma, salvado y germen en las mismas o sustancialmente las mismas proporciones relativas en que existen en el grano intacto, tales como el grano de trigo, grano de maíz, grano de arroz o grano de avena intactos.

La fracción gruesa puede contener salvado en una cantidad de al menos aproximadamente 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa, y menos de aproximadamente 40 % en peso de almidón o endosperma, pero generalmente al menos aproximadamente 10 % en peso de almidón o endosperma, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 35 % en peso de almidón, con respecto al peso de la fracción gruesa. En algunos aspectos de la descripción, la fracción gruesa puede contener al menos aproximadamente 60 % en peso de salvado, al menos aproximadamente 10 % en peso de germen y menos de o una cantidad igual a aproximadamente 30 % en peso de almidón, con respecto al peso de la fracción gruesa. En algunos aspectos de la descripción, la fracción gruesa

puede tener una distribución del tamaño de partículas de al menos aproximadamente 75 % en peso con un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, menor o igual a aproximadamente 5 % en peso o menos con un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros.

5 La trituración o molienda de la fracción gruesa es suficientemente exhaustiva para evitar una sensación en boca arenosa en los productos que la contienen. Sin embargo, el contenido de almidón y la cantidad o grado de trituración o molienda son limitados, para evitar daños sustanciales del almidón debido a la abrasión ocasionada por la máquina y la abrasión entre las partículas y las partículas de almidón. La fracción gruesa puede molerse o triturarse para obtener una fracción triturada o molido, o componente de salvado triturado o molido, con el mismo o sustancialmente el mismo contenido de salvado, germen y almidón que la fracción gruesa. La fracción o componente de salvado grueso triturado o molido puede tener una distribución de tamaño de partículas de al menos aproximadamente 40 % en peso de la fracción o componente que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, y teniendo una cantidad menor o igual a aproximadamente 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros. En algunos aspectos de la descripción la fracción o componente de salvado grueso triturado o molido o el componente de salvado puede tener una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso, más preferiblemente de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior a o igual a 500 micrómetros, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, más preferiblemente de aproximadamente 45 % en peso a aproximadamente 60 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, y menor que o igual a aproximadamente 60 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando dichos porcentajes un total de 100 % en peso.

25 La estabilización de la fracción gruesa se puede conseguir por calentamiento de la fracción gruesa en condiciones de temperatura, contenido de humedad, y tiempos de tratamiento que son suficientes para inactivar al menos sustancialmente la lipasa, y la lipoxigenasa que se inactiva más fácilmente. El contenido de humedad de la fracción gruesa durante la estabilización del tratamiento con calor debería ser lo suficientemente alto como para evitar una producción sustancial de acrilamida, pero no tan alta como para producir una gelatinización sustancial del almidón o requerir un excesivo secado después de la estabilización. En algunos aspectos de la descripción, la temperatura de estabilización puede ser de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C, preferiblemente de aproximadamente 115 °C a aproximadamente 125°, y el contenido de humedad de la fracción gruesa sometida a la estabilización puede ser de aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 17 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 9 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa. En algunos aspectos de la descripción, el tiempo de tratamiento con calor puede ser de aproximadamente 0,25 minutos a aproximadamente 12 minutos, preferiblemente de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 7 minutos. La estabilización se puede realizar sin alteración alguna o sustancial de las proporciones del germen, salvado, o endosperma almidonado de la fracción o componente sometido a la estabilización. En algunos aspectos de la descripción, donde la estabilización se lleva a cabo antes o después de la trituración, la estabilización puede llevarse a cabo sin alteración alguna o sustancial de la distribución de tamaño de partículas de la fracción o componente sometido a la estabilización. Por ejemplo, en algunos aspectos de la descripción, la fracción triturada o molido estabilizada o el componente de salvado triturado o molido estabilizado puede tener el mismo o sustancialmente el mismo contenido de salvado, germen y almidón y distribución de tamaño de partículas que la fracción gruesa triturada o molido antes de estabilizarla.

45 En algunos aspectos de la descripción un componente de salvado estabilizado que incluye una fracción gruesa tratada con calor triturada o molido puede tener una actividad de lipasa de menos de aproximadamente 3, preferiblemente menos de aproximadamente 2, con máxima preferencia menos de aproximadamente 1 micromol de ácido libre de butirato formado por hora y por 0,1 gramo del componente de salvado estabilizado o fracción gruesa molido o triturada estabilizada, base húmeda o seca, y un contenido de acrilamida inferior o igual a aproximadamente 150 ppb, preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 100 ppb, con respecto al peso del componente de salvado estabilizado o fracción gruesa estabilizada. La fracción gruesa estabilizada puede mantener una capacidad antioxidante secuestrante de radicales libres no inferior a aproximadamente 150 micromoles Trolox equivalentes por gramo. La retención de vitaminas, tal como la retención de las vitaminas E, B1 y B2 puede ser al menos aproximadamente 80 % en peso, con respecto al contenido de vitaminas en el componente de salvado antes de la estabilización. La gelatinización del almidón puede ser inferior a aproximadamente 25 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 10 %, con máxima preferencia inferior a aproximadamente 5 %, medida mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). El bajo grado de gelatinización del almidón y el bajo grado de daño del almidón conseguido en el componente de salvado de trigo y la harina de trigo integral de la presente invención se ilustran por una entalpía de fusión del almidón superior a aproximadamente 4 J/g, preferiblemente superior a aproximadamente 5 J/g, con respecto al peso de almidón en el componente de salvado estabilizado o fracción molido gruesa, medida por calorimetría diferencial de barrido (DSC), a una temperatura máxima de aproximadamente 65 °C a aproximadamente 70 °C, y una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) de menos de aproximadamente 200 %, con respecto al peso del componente de salvado estabilizado o la fracción gruesa.

65 Las harinas integrales estabilizadas de la presente descripción, tales como harina de trigo integral estabilizada, incluyen salvado, germen y endosperma, donde solamente una parte del endosperma se somete a estabilización por calor en presencia de salvado y germen, pero al menos una parte sustancial del salvado y del germen se somete a estabilización por

calentamiento en ausencia de una parte principal del endosperma. En algunos aspectos de la descripción, la harina de trigo integral estabilizada puede tener una actividad de lipasa de menos de aproximadamente 1,5, preferiblemente menos de aproximadamente 1,25, con máxima preferencia menos de aproximadamente 1 micromol de ácido libre de butirato formado por hora y por 0,1 gramo de la harina integral estabilizada, en base húmeda o en base seca, y un contenido de acrilamida inferior a aproximadamente 45 ppb, preferiblemente menos de aproximadamente 30 ppb, con respecto al peso de la harina integral estabilizada. Las harinas de trigo integral estabilizadas pueden tener un contenido de ácido graso libre inesperadamente bajo inferior a aproximadamente 10 % en peso de los lípidos de harina totales al cabo de un mes de almacenamiento acelerado a 95 °C, o menos de aproximadamente 3000 ppm, con respecto al peso del contenido de la harina integral estabilizada, y un contenido de hexanal inesperadamente bajo inferior a aproximadamente 10 ppm al cabo de 1 mes de almacenamiento acelerado a 95 °C, con respecto al peso de la harina integral estabilizada.

La distribución de tamaño de partículas de la harina de trigo integral estabilizada puede ser menor de aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente menor de aproximadamente 5 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. de 500 micrómetros (n.º 35), de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 40 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. de 250 micrómetros (n.º 60), de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 60 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 40 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. de 149 micrómetros (n.º 100) y menos de aproximadamente 70 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 55 % en peso, a través de un tamiz estándar de EE. UU. de 149 micrómetros (n.º 100). La harina de trigo integral estabilizada presenta una excelente funcionalidad de horneado de galletas dulces, con una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a aproximadamente 85 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 82 %.

Entre los productos alimenticios que se pueden obtener usando el componente de salvado estabilizado o harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, como ingredientes figuran productos alimenticios farináceos, tales como productos de panadería y aperitivos, tales como galletas, galletas saladas, galletas dulces, masas de pizza, masas de tarta, panes, rosas de tipo *bagel*, *bretzel*, *brownies*, magdalenas, gofres, pastas, tartas, panes rápidos, panecillos dulces, donuts, barritas de fruta y cereales, tortitas de maíz, productos de panadería parcialmente horneados, y barritas crujientes de cereales, y cereales para el desayuno listos para comer.

Las harinas integrales estabilizadas, tales como la harina de trigo integral estabilizada de la presente descripción, se pueden usar en la producción coherente de masas con alta capacidad de procesamiento mecánico y laminables para fabricar productos horneados tales como galletas, galletas saladas, y aperitivos con estiramiento en el horno y aspecto inesperadamente superiores, y una sensación en boca no arenosa. En algunos aspectos de la descripción, el estiramiento en el horno o el estiramiento de la galleta puede ser al menos aproximadamente 130 % del diámetro original de la masa prehorneada, tal como se mide según el método del banco de pruebas AACC 10-53.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 muestra una representación de la absorbancia a 620 nm y 525 nm frente a la concentración de almidón en una muestra, que se utiliza para calcular el contenido de almidón de las muestras de fracción de salvado del ejemplo 1.

La Fig. 2 muestra el perfil de fusión cristalina del almidón en muestras de salvado estabilizadas determinado mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) estándar.

La Fig. 3 muestra una representación de la absorbancia a 620 nm y 525 nm frente a la concentración de almidón en una muestra, que se utiliza para calcular el contenido de almidón de las muestras de fracción de salvado del ejemplo 2.

La Fig. 4 muestra distribuciones de tamaño de partícula y capacidades de retención de disolvente (SRC) de fracciones gruesas del ejemplo 3 o componentes de salvado que contienen mezclas de salvado y germen antes y después de la trituración.

La Fig. 5 muestra la funcionalidad de horneado de harinas de trigo integrales estabilizadas y sin estabilizar en términos de capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato) y estiramiento de la galleta en función del porcentaje en peso de partículas de un tamaño superior a 250 micrómetros.

La Fig. 6 muestra una representación de los ácidos grasos libres totales en las harinas de trigo integrales estabilizadas y sin estabilizar elaboradas con componentes de salvado triturado en función de la duración del tiempo en almacenamiento acelerado.

La Fig. 7 muestra una representación de los ácidos grasos libres totales en las harinas integrales estabilizadas y sin estabilizar elaboradas con subproducto de salvado triturado procedente de la producción de molienda de harina blanca refinada en función de la duración del tiempo en almacenamiento acelerado.

Descripción detallada de la invención

La presente descripción proporciona un componente de salvado estabilizado, tal como un componente de trigo altamente enriquecido en salvado, una harina integral estabilizada que contiene el componente de salvado estabilizado, tal como una harina de trigo integral estabilizada que contiene el componente de salvado de trigo estabilizado y procesos de preparación del componente de salvado estabilizado y la harina integral estabilizada. Tanto las condiciones de trituración o de molienda como el proceso de estabilización, proporcionan una reducción sustancial de la actividad de lipasa y de la actividad de lipoxigenasa, y una formación de ácidos grasos libres, hexanal y acrilamida inesperadamente baja. Por otro lado, se consigue una retención de nutrientes inesperadamente elevada, tales como vitaminas y antioxidantes en el componente de salvado estabilizado y harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada. Las condiciones de triturado o molienda y las condiciones de estabilización no influyen negativamente en la capacidad de procesamiento mecánico de la masa o la funcionalidad del horneado de la harina integral estabilizada. El componente de salvado estabilizado tiene un bajo contenido de almidón con una baja relación de unión al yodo, bajo daño del almidón y gelatinización del almidón, y una baja capacidad de retención de disolvente (SRC). La harina de trigo integral, que contiene las proporciones naturales de endosperma, salvado y germen análogas a las del grano intacto, tiene una capacidad de retención de disolvente (SRC) inesperadamente baja, bajo daño del almidón y bajo grado de gelatinización, y un período de validez inesperadamente prolongado. Según el proceso de la presente descripción, solo una pequeña parte del endosperma de la harina integral, tal como harina de trigo integral, se somete a trituración o molienda en presencia del salvado y del germen para reducir el daño del almidón. Además, solamente esa pequeña porción del endospermo se somete a estabilización por calentamiento, para reducir sustancialmente la gelatinización del almidón. Sin embargo, al menos una parte sustancial del salvado y el germen de la harina integral, tal como la harina de trigo completa, se somete a estabilización por calentamiento, para reducir sustancialmente la actividad lipasa y lipoxigenasa. Se puede fabricar un producto integral a partir de la harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, que tiene una textura inesperadamente no arenosa superior, y diseminación de la galleta en el horno.

Producción de la fracción gruesa y de la fracción fina

En realizaciones de la invención para preparar una harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, y un componente de salvado estabilizado, los granos o bayas de cereal enteros pueden triturarse, molturarse o molerse de forma convencional utilizando equipos de molienda de harina conocidos para obtener granos de cereales integrales triturados. Los granos de cereal entero pueden estar atemperados o sin atemperar, pero preferiblemente son granos de cereal entero crudos sin atemperar, que se han limpiado mediante lavado con agua. Se prefieren contenidos de humedad de aproximadamente 11 % en peso a aproximadamente 14,5 % en peso para fines de molienda o trituración, siendo especialmente preferidos contenidos de humedad de aproximadamente 12,5 % en peso a aproximadamente 13,5 % en peso. Si existe demasiada poca humedad en los granos o bayas, los granos o bayas pueden fragmentarse indeseablemente y originar daños al almidón. Una cantidad de humedad demasiado elevada puede volver los granos o bayas susceptibles a una excesiva gelatinización del almidón y puede hacer también que los granos o bayas sean difíciles de moler o triturar. Por estos motivos, se prefieren contenidos de humedad del grano o baya de aproximadamente 11 % en peso a aproximadamente 14,5 % en peso exactamente antes de la molienda o trituración. Si el contenido de humedad de los granos o bayas es demasiado bajo, puede añadirse humedad a los granos o bayas secos antes de la molienda o trituración para aumentar el contenido de humedad hasta un nivel aceptable para la molienda o trituración. La adición de humedad se puede conseguir de una manera convencional atemperando los granos o bayas o pulverizando agua sobre sus superficies y dejando que se humedezcan. Los granos enteros naturales, tales como los granos de trigo, tienen en general un contenido de humedad de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 14,5 % en peso. En consecuencia, en las realizaciones preferidas de la invención, puede no necesitarse o emplearse el humedecimiento o atemperación de las bayas o granos enteros o el humedecimiento de una fracción gruesa para lograr un contenido de humedad deseado para la molienda o trituración.

Los granos de cereal integral molturados, triturados, o molidos pueden someterse a operaciones de separación o tamizado convencionales, usando equipos de procesamiento de grano conocidos para obtener una fracción gruesa y una fracción fina. Según el método de la presente invención, la fracción gruesa se enriquece en salvado y germen y también contiene endosperma, y la fracción fina es predominantemente endosperma, y también puede contener algo de salvado y germen.

Los granos enteros contienen principalmente el endospermo, el salvado, y el germen, en proporciones decrecientes, respectivamente. En los granos de cereal entero, por ejemplo, con una humedad de campo de aproximadamente 13 % en peso, el endospermo o almidón constituye aproximadamente 83 % en peso, el salvado constituye aproximadamente 14,5 % en peso, y el germen constituye aproximadamente 2,5 % en peso, basándose en el peso del grano intacto. El endospermo contiene el almidón, y tiene menos contenido de proteína que el germen y el salvado. Tiene también poca grasa bruta y constituyentes de cenizas.

El salvado (pericarpo o cáscaras) es la pared del ovario maduro que está por debajo de la cutícula, y comprende todas las capas celulares externas por debajo del revestimiento de la semilla. Tiene muchos polisacáridos no de almidón, tales como celulosa y pentosanos. Una pentosana es un carbohidrato complejo presente en muchos tejidos vegetales, especialmente salvados, caracterizado por su hidrólisis que da lugar a monosacáridos de cinco átomos de carbono (pentosas). Es cualquier miembro de un grupo de polisacáridos de tipo pentosa que tiene la fórmula $(C_5H_8O_4)_n$ hallada en diferentes alimentos y zumos vegetales. El salvado o pericarpo tiende a ser muy duro debido a su alto contenido en

fibra y transmite una sensación en boca seca, arenosa, particularmente cuando están presentes en tamaños de partículas grandes. Contiene también la mayoría de lipasas y lipooxigenasas del grano y necesita ser estabilizado.

5 Como resultado de la tenacidad o resistencia del salvado, durante las operaciones de molienda de la harina, generalmente se rompe en partículas más pequeñas a un nivel significativamente menor que el endosperma y el germen. Utilizando tamaños de tamiz adecuados, es posible obtener una fracción gruesa que esté enriquecida en salvado con respecto a las proporciones naturales de salvado, germen y endosperma en el grano intacto. A medida que aumenta la extensión de la molienda o molturación, el tamaño de partículas del salvado se aproxima al tamaño de partículas del almidón, haciendo que el salvado y el almidón sean más difíciles de separar. También, el daño del almidón tiende a aumentar debido a una mayor
10 entrada de energía mecánica, y la aspereza del salvado en comparación con el endospermo, y la ruptura de los gránulos de almidón. En realizaciones de la presente invención, se lleva a cabo la molienda o trituración para enriquecer la fracción gruesa en salvado, sin causar un daño considerable en el almidón. También, en realizaciones de la presente invención, el salvado se reduce sustancialmente en tamaño de partículas para reducir sustancialmente la arenosidad, pero la reducción del tamaño de partículas se limita para evitar un daño sustancial al almidón presente en la fracción gruesa. También, el almidón dañado mecánicamente tiende a ser más susceptible a la gelatinización. Según el proceso de la presente
15 invención, se transmite o se expone poco, o nada, de almidón mecánicamente dañado al proceso de estabilización.

La escútula y el eje embrionario son las partes principales del germen. La escútula constituye el 90 % del germen y almacena nutrientes que se movilizan durante la germinación. Durante esta transformación, el eje embrionario crece transformándose en germinación. El germen se caracteriza por su alto contenido en aceite graso. Es también rico en proteínas brutas, azúcares, y constituyentes de cenizas. La escútula contiene células de parénquima ricas en aceite que tienen paredes celulares alveolares. Preferiblemente, el germen se somete a estabilización junto con el salvado para inactivar la posible lipasa y lipoxigenasa que pueda estar presente en los anteriores por la molienda o molturación, o evitando la sustancial destrucción de los nutrientes naturales.

25 En realizaciones más específicas del proceso de molienda de granos, la producción de la fracción gruesa y la fracción fina puede incluir conducir una cantidad de granos enteros, tales como trigo, a través de al menos una serie de rodillos de rotura o molinos de rodillo y un clasificador corriente abajo de cada serie de rodillos de rotura para proporcionar granos molidos. Cuantos más rodillos de rotura se utilicen, más almidón o endospermo se libera, y el salvado tiende a permanecer en partículas más gruesas y grandes que el endospermo. Durante la operación de rotura, las partículas de salvado tienden a aplanarse mientras el endospermo tiende a fragmentarse en gránulos de almidón individuales. Los granos molidos pueden tamizarse o purificarse para recoger la fracción fina y retener la fracción gruesa. Por ejemplo, en las realizaciones de la invención, las bayas de trigo pueden conducirse a través de al menos una serie de rodillos de rotura y sus clasificadores para: 1) recoger una primera fracción de endosperma que tiene un tamaño de partículas inferior o igual a 500 micrómetros y retener una primera fracción gruesa molida que tiene un tamaño de partículas de más de 500 micrómetros; 2) triturar la primera fracción gruesa triturada retenida para recoger una segunda fracción de endosperma que tiene un tamaño de partículas inferior o igual a 500 micrómetros, y 3) combinar la primera fracción de endosperma y la segunda fracción de endosperma para obtener una fracción fina, y 4) retener una segunda fracción gruesa triturada que tiene un tamaño de partículas de más de 500 micrómetros para una reducción adicional del tamaño. En las operaciones de molienda
30 convencionales, se pueden emplear cinco series de rodillos de rotura y un clasificador corriente abajo de cada serie de rodillos de rotura. En las realizaciones preferidas de la invención, se pueden emplear menos series de rodillos de rotura y clasificadores, por ejemplo solo dos series de rodillos de rotura y dos clasificadores para reducir el daño del almidón y lograr una distribución de tamaño de partículas mayor para la fracción fina y la fracción gruesa. También, preferiblemente se emplean corrugaciones poco pronunciadas sobre cada rodillo de cada par de rodillos de rotura para reducir la dispersión del endosperma tras la rotura de los granos, reducir el daño del almidón durante las operaciones de rotura, y conseguir una distribución de tamaño de partículas más grande para la fracción fina y la fracción gruesa.
40
45

Al romper granos enteros y triturar sin tamizar, el almidón del endosperma y el almidón del pericarpo se distribuyen uniformemente por todo el producto triturado, en sus proporciones naturales. Cuando se emplea rotura y tamizado, la fracción gruesa que contiene el salvado tiende a enriquecerse en almidón de pericarpo con respecto al almidón del endosperma. En otra realización, puede emplearse una operación de formación de perlas que desprende la capa de salvado del grano y tiende a aumentar la proporción de almidón de pericarpo con respecto al almidón de endosperma en la fracción gruesa.
50

55 La fracción gruesa puede contener salvado en una cantidad de al menos aproximadamente 50 % en peso con respecto al peso de la fracción gruesa. La cantidad de germen presente en la fracción gruesa puede ser aproximadamente la misma cantidad relativa para el salvado que está en el grano intacto. La cantidad de almidón o endosperma presente en la fracción gruesa, puede ser inferior a aproximadamente 40 % en peso, pero generalmente al menos de aproximadamente 10 % en peso de almidón o endosperma, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 35 % en peso de almidón, preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 30 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa. En las realizaciones preferidas, la fracción molida puede contener al menos aproximadamente 60 % en peso de salvado, y al menos aproximadamente 10 % en peso de germen, con respecto al peso de la fracción gruesa. En las realizaciones de la invención, la fracción gruesa puede tener una distribución de tamaño de partículas de al menos aproximadamente 75 % en peso con un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, menos de o igual a aproximadamente 5 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros.
60
65

La fracción fina es predominantemente endosperma y generalmente puede contener almidón o endosperma en una cantidad de al menos aproximadamente 90 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 92 % en peso a aproximadamente 95 % en peso de sólidos, con respecto al peso de la fracción fina. La cantidad de germen presente en la fracción fina puede ser aproximadamente la misma cantidad relativa para el salvado que está en el grano intacto. La cantidad de salvado presente en la fracción fina puede ser inferior a aproximadamente 8 % en peso, por ejemplo de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 6 % en peso de salvado, con respecto al peso de la fracción fina. En las realizaciones de la invención, la fracción fina puede contener germen en una cantidad inferior a aproximadamente 1,5 % en peso, por ejemplo, inferior a aproximadamente 1 % en peso, con respecto al peso de la fracción fina. En las realizaciones de la invención, la fracción fina puede tener una distribución de tamaño de partículas inferior a aproximadamente 10 % en peso con un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, inferior o igual a aproximadamente 80 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 65 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros. Más preferiblemente, la fracción fina puede tener una distribución de tamaño de partículas inferior o igual a aproximadamente 5 % en peso con un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, inferior o igual a aproximadamente 55 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 65 % en peso con un tamaño de partículas inferior a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros. En las realizaciones de la invención, la trituration o molienda de la fracción fina a una distribución de tamaño de partículas superior a la de la harina de trigo refinada ayuda a reducir el daño del almidón y mejorar la funcionalidad del horneado sin influir sustancialmente de forma negativa en la textura de los productos horneados.

En las realizaciones de la invención, la molienda del grano entero, tal como trigo, produce de aproximadamente 60 % en peso a aproximadamente 83 % en peso de la fracción fina y de aproximadamente 17 % en peso a aproximadamente 40 % en peso de fracción gruesa, con respecto al peso del grano completo.

Trituración de la fracción gruesa

La fracción gruesa retenida o recuperada se somete a trituration o molienda adicional para reducir sustancialmente la arenosidad sin dañar sustancialmente el almidón presente en la fracción gruesa debido a la abrasión mecánica o a la abrasión producida entre las partículas de salvado y las partículas de almidón.

En las realizaciones preferidas, la fracción gruesa retenida o recuperada se somete a la molienda o trituration adicional mediante un triturador, que es preferiblemente un molino de separación. El molino de separación empleado puede ser un molino de separación comercial, tal como un molino de separación Bauermeister (Bauermeister, Inc., Memphis, Tenn.). El molino de hueco Bauermeister está diseñado para molienda fina e incluye un hueco de molienda ajustable entre un rotor de forma cónica y un deflector corrugado. La fracción gruesa puede transportarse continuamente desde el molino de harina hasta la entrada del molino de separación a una velocidad aproximada de aproximadamente 272 kg (600 libras) por hora a aproximadamente 454 kg (1000 libras) por hora. A continuación, la fracción gruesa triturada se puede descargar fuera del fondo del molino de separación por gravedad.

Independientemente de los procesos de molienda o trituration de la fracción gruesa empleados, la fracción triturada o molida resultante, o el componente de salvado triturado o molido puede tener el mismo o sustancialmente el mismo contenido de salvado, germen y almidón que la fracción gruesa. Por lo tanto, la fracción o componente de salvado triturado o molido puede contener salvado en una cantidad de al menos aproximadamente 50 % en peso con respecto al peso de la fracción gruesa triturada. La cantidad de germen presente en la fracción gruesa molida o componente de salvado puede ser aproximadamente la misma cantidad relativa para el salvado que está en el grano intacto. La cantidad de almidón o endospermo presente en la fracción gruesa molida, puede ser inferior a aproximadamente 40 % en peso, pero generalmente al menos aproximadamente 10 % en peso de almidón o endospermo, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 35 % en peso de almidón, preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 30 % en peso, basándose en el peso de la fracción gruesa molida. En realizaciones preferidas, la fracción gruesa molida puede contener al menos aproximadamente 60 % en peso de salvado, y al menos aproximadamente 10 % en peso de germen, basándose en el peso de la fracción gruesa molida.

La fracción o componente de salvado grueso triturado o molido puede tener una distribución de tamaño de partículas de al menos aproximadamente 40 % en peso de la fracción o componente con un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, y teniendo menos de o igual a aproximadamente 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros. En las realizaciones preferidas, la fracción o componente de salvado grueso triturado o molido puede tener una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual a 500 micrómetros, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, e inferior o igual a aproximadamente 60 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando los porcentajes a un total de 100 % en peso.

Más preferiblemente, la fracción o componente de salvado grueso triturado o molido puede tener una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso inferior a 841 micrómetros

pero superior o igual a 500 micrómetros, de aproximadamente 45 % en peso a aproximadamente 60 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, y de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando los porcentajes a un total de 100 % en peso.

5 Estabilización de la fracción gruesa

La estabilización de la fracción gruesa por calentamiento para desactivar la lipasa y la lipoxigenasa se puede realizar antes, durante o después de la trituración o molienda de la fracción gruesa. En las realizaciones de la invención, la estabilización puede realizarse mediante cualquier combinación de calentamiento antes, durante y después de la trituración y la molienda. La estabilización se realiza preferiblemente después de la trituración o la molienda de la fracción gruesa.

Independientemente de cuándo se lleve a cabo, la estabilización de la fracción gruesa se puede conseguir por calentamiento de la fracción gruesa en condiciones de temperatura, contenido de humedad, y tiempos de tratamiento que son suficientes para inactivar al menos sustancialmente la lipasa, y la lipoxigenasa de inactivación más sencilla. El contenido de humedad de la fracción gruesa durante la estabilización del tratamiento con calor debería ser lo suficientemente alto para evitar una producción sustancial de acrilamida. Se cree que la formación de acrilamida se produce después de una degradación de Strecker de la asparagina y la metionina en presencia de productos de pardeamiento dicarbonilos de Maillard. Se cree que un contenido de humedad elevado inhibe la formación de acrilamida porque el agua es más nucleófila que la asparagina y reduce la actividad del grupo amino primario de la asparagina. Temperaturas de estabilización inferiores y tiempos de estabilización más cortos también dan como resultado una menor producción de acrilamida. Sin embargo, un aumento en el contenido de humedad de la fracción gruesa durante la estabilización para reducir la formación de acrilamida tiende a aumentar la gelatinización del almidón o puede requerir un secado excesivo tras la estabilización para reducir el riesgo de crecimiento de moho. El contenido de humedad de la fracción gruesa durante la estabilización no debe ser tan alto como para dar lugar a una excesiva gelatinización del almidón o para requerir un secado exhaustivo para conseguir un contenido de humedad estable de larga duración. En las realizaciones de la invención, el contenido de humedad de la fracción gruesa sometida a la estabilización puede ser de aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 17 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 9 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa. Durante la estabilización, se prefiere que la fracción gruesa ni gane ni pierda humedad. En algunas realizaciones, la fracción gruesa puede perder de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de humedad, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso de humedad durante la estabilización. En otras realizaciones, la fracción gruesa puede aumentar de humedad, en las mismas cantidades, como resultado de la inyección de vapor durante el proceso de estabilización. Sin embargo, la pérdida de humedad y la ganancia de humedad se pueden controlar de manera conocida de modo que el contenido de humedad de la fracción gruesa durante la estabilización está dentro del intervalo deseado para controlar la producción de acrilamida, la gelatinización, y los requisitos de secado y la actividad de lipasa, por ejemplo, de aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 17 % en peso, preferiblemente e aproximadamente 9 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.

En las realizaciones de la invención, el contenido de humedad de la fracción de salvado puede controlarse tratando o atemperando las bayas o granos enteros de tal manera que las partes exteriores de las bayas o granos se humedecen sin humedecer sustancialmente la parte interior de los mismos. Dicho tratamiento evita o reduce sustancialmente la necesidad de secar la fracción fina obtenida a partir del interior o endosperma de la semilla o grano, humedeciendo a la vez el exterior o las partes de salvado y germen de la baya para el tratamiento de estabilización posterior. Los métodos de atemperamiento que se pueden usar para conseguir humedecer una superficie o salvado incluyen, por ejemplo, el remojo de las bayas o granos o semillas enteros, tales como bayas de trigo enteras, durante períodos de tiempo limitados en un baño o cuba. En otras realizaciones, la baya entera puede pulverizarse superficialmente con agua y dejar que se empape o atempere. Pueden emplearse tiempos de remojo o atemperado de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 24 horas según algunas realizaciones de la invención. El remojo de las bayas durante un período prolongado de tiempo no es deseable debido a que puede dar lugar a una penetración en profundidad de agua en las bayas, humedeciendo la parte interior de las bayas.

En otras realizaciones, la fracción gruesa, en lugar de o además de la baya o grano entero se puede humedecer para conseguir un contenido de humedad deseado en la fracción gruesa. Si se necesita humectación, se prefiere llevarla a cabo sobre la fracción de salvado, en lugar de en los granos o bayas enteros.

Los granos de trigo enteros naturales tienen en general un contenido de humedad de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 14,5 % por ciento en peso. En consecuencia, en las realizaciones preferidas de la invención, puede no necesitarse o emplearse el humedecimiento o atemperación de las bayas enteras o el humedecimiento de la fracción gruesa para lograr un contenido de humedad deseado para la estabilización.

Aunque temperaturas de estabilización inferiores y tiempos de estabilización más cortos ayudan a reducir la producción de acrilamida, gelatinización del almidón, y destrucción de vitaminas y antioxidantes, las temperaturas más bajas reducen la cantidad de lipasa y lipoxigenasa que se destruye. En las realizaciones de la invención, la temperatura de estabilización puede ser de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C, preferiblemente de aproximadamente 115 °C a aproximadamente 125 °C. La temperatura de estabilización se puede medir con una sonda de temperatura introducida en el interior y colocada en posición central dentro del lote de la fracción gruesa tratada. En realizaciones de la

invención, el tiempo de tratamiento térmico puede ser de aproximadamente 0,25 minutos a aproximadamente 12 minutos, preferiblemente de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 7 minutos, utilizándose por lo general los tiempos de tratamiento más prolongados con las temperaturas más bajas y el contenido de humedad más bajo.

5 En las realizaciones de la invención, la temperatura de estabilización y el tiempo de estabilización, y el contenido de humedad se pueden controlar de tal manera que la gelatinización del almidón resultante de la estabilización en la fracción gruesa molida o molidura estabilizada o componente de salvado puede ser inferior a aproximadamente 25 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 10 %, con máxima preferencia inferior a aproximadamente 5 %, tal como se determina mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC). El bajo grado de gelatinización del almidón y el bajo grado de
10 daño del almidón conseguido en la presente invención se ilustran por una entalpía de fusión del almidón superior a aproximadamente 4 J/g, preferiblemente superior a aproximadamente 5 J/g, basado en el peso de almidón en el componente de salvado estabilizado o fracción molida gruesa, medida por calorimetría de barrido diferencial (DSC), a una temperatura de aproximadamente 65 °C a aproximadamente 70 °C. En general, la gelatinización del almidón se produce cuando: a) se añade agua, y se mezcla con almidón, en una cantidad suficiente, en general de al menos aproximadamente
15 30 % en peso, con respecto al peso del almidón, y b) la temperatura del almidón se eleva a al menos aproximadamente 80 °C (176 °F), preferiblemente a 100 °C (212 °F) o más. La temperatura de gelatinización depende de la cantidad de agua disponible para su interacción con el almidón. Cuanto menor es la cantidad disponible de agua, en general, mayor es la temperatura de gelatinización. La gelatinización puede definirse como el colapso (alteración) de órdenes moleculares dentro del gránulo de almidón, que se manifiesta en cambios irreversibles en las propiedades tales como hinchazón granular, fusión de cristalito nativo, pérdida de birrefringencia y solubilización del almidón. La temperatura de la etapa inicial de gelatinización y el intervalo de temperaturas en el que se produce, dependen de la concentración del almidón, método de observación, tipo de gránulo, y de la heterogeneidad en la población de gránulos en observación. El pegado es el fenómeno de la segunda etapa que sigue a la gelatinización en la disolución del almidón. Implica un aumento de la hinchazón granular, de la exudación de componentes moleculares (p. ej. amilosa, seguido de amilopectina) del gránulo, y eventualmente, una,
20 total colapso de los gránulos. Véase Atwell y col., "The Terminology And Methodology Associated With Basic Starch Phenomena," *Cereal Foods World*, vol. 33, n.º 3, págs. 306-311 (Marzo 1988).

El bajo grado de gelatinización del almidón y la baja cantidad de daño del almidón debido a la abrasión durante la molienda se puede medir por la capacidad de retención del disolvente carbonato sódico-agua (SRC carbonato
30 sódico). La capacidad de retención del disolvente (SRC) se puede medir mezclando una muestra del ingrediente o componente, tal como la fracción molida gruesa o componente de salvado estabilizados, o una harina de trigo integral estabilizada, que tiene un peso (A), p. ej., aproximadamente 5 g, con un gran exceso de agua u otro disolvente, tal como una solución acuosa de carbonato sódico (p. ej. carbonato sódico al 5 % en peso) y centrifugación de la mezcla disolvente-harina. A continuación, el líquido sobrenadante se puede decantar y la
35 muestra se puede pesar para obtener el peso de la muestra húmeda centrifugada (B), en donde el valor SRC se calcula mediante la siguiente ecuación: $\text{Valor SRC} = ((B-A)/A) \times 100$. En las realizaciones de la invención, la fracción gruesa triturada o molida estabilizada tiene una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC carbonato de sodio) inferior a aproximadamente 200 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 180 %.

40 Aunque la gelatinización del almidón, la producción de acrilamida y la destrucción de vitaminas y antioxidantes son prácticamente limitados, la estabilización por calor logra una inactivación inesperadamente superior de la lipasa y la lipoxigenasa. Se cree que estos dos componentes son principalmente responsables del enranciamiento catalizado por enzimas de la harina integral. En las realizaciones de la invención, una fracción gruesa molida o triturada tratada con calor puede tener una actividad de lipasa inferior a aproximadamente 3, preferiblemente inferior a aproximadamente 2, con
45 máxima preferencia inferior a aproximadamente 1 micromol de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramo del componente de salvado estabilizado o fracción gruesa molida o triturada estabilizada, en base seca o base húmeda. En las realizaciones de la invención, esto puede ser una reducción de una actividad de lipasa de aproximadamente 4 a 6 micromoles de ácido libre de butirato por hora por 0,1 gramo de componente de salvado sin estabilizar o fracción gruesa triturada o molida sin estabilizar, o una reducción de lipasa de al menos aproximadamente 25 %. De manera más preferida, tanto la actividad lipasa como la actividad lipoxigenasa se elimina por completo. Además, el contenido de acrilamida se puede limitar a menos o igual a aproximadamente 150 ppb, o preferiblemente inferior o igual a 100 ppb, basado en el peso del componente de salvado estabilizado o fracción gruesa estabilizada. Los antioxidantes naturales se mantienen de forma que la fracción gruesa estabilizada puede tener una capacidad antioxidante secuestrante de radicales libres no inferior a aproximadamente 150 micromoles Trolox equivalentes por gramo. La retención de vitaminas, tal como la retención de las vitaminas E, B1 y B2 puede ser al menos aproximadamente 80 % en peso, basado en el
50 contenido de vitaminas en el componente de salvado antes de la estabilización.

La estabilización de la fracción gruesa por calentamiento se puede realizar sin alteración alguna o sustancial de las proporciones de germen, salvado, almidón o endosperma de la fracción o componente sometido a la estabilización. Por lo tanto, en las realizaciones de la invención, la fracción gruesa triturada o molida estabilizada independientemente de si se lleva a cabo o no la estabilización antes, durante o después de la trituración de la fracción gruesa, contiene salvado en una cantidad de al menos aproximadamente 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa triturada o molida estabilizada. La cantidad de germen presente en la fracción gruesa triturada estabilizada puede ser aproximadamente la misma cantidad relativa para el salvado que está en el grano intacto. La cantidad de almidón o endosperma presente en la fracción gruesa triturada o molida estabilizada, puede ser inferior a aproximadamente 40 % en peso, pero generalmente al menos aproximadamente 10 % en peso de almidón o endosperma, por ejemplo de aproximadamente
65

15 % en peso a aproximadamente 35 % en peso de almidón, preferiblemente inferior o igual a aproximadamente 30 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa triturada o molida estabilizada. En las realizaciones preferidas, la fracción gruesa triturada o molida estabilizada puede contener al menos aproximadamente 60 % en peso de salvado, y al menos aproximadamente 10 % en peso de germen, con respecto al peso de la fracción gruesa triturada estabilizada.

5 En las realizaciones de la invención, el almidón de la fracción gruesa triturada estabilizada es estructuralmente diferente y forma el color "rojo" debido al almidón de tipo amilopectina altamente ramificado de elevado peso molecular presente en el pericarpio. El almidón todavía asociado con la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida puede, en las realizaciones de la invención, formar un complejo almidón-yodo que absorbe luz a
10 aproximadamente 525 nm y aproximadamente 600 nm. Una relación de absorbancia de unión al yodo, inferior a aproximadamente 1,2 (p. ej., $600 \text{ nm}/525 \text{ nm} = 1,15$), preferiblemente inferior a aproximadamente 1,0 es una característica distintiva. Muestra que la fracción gruesa triturada estabilizada está altamente enriquecida en salvado, que contiene poco almidón asociado (es decir, el almidón es del pericarpio exterior y no del endosperma).

15 En las realizaciones de la invención, la fracción gruesa triturada y estabilizada, o el salvado purificado, después de la estabilización y la reducción del tamaño de partículas puede tener un contenido de cenizas de aproximadamente 3 % en peso a aproximadamente 7 % en peso, por ejemplo de aproximadamente 5,5 %, y una densidad de aproximadamente 0,15 g/ml a aproximadamente 0,5 g/ml, por ejemplo de aproximadamente 0,3 g/ml y un contenido de humedad/HR controlado a un nivel de entre 20 % a 50 %. A esta HR, la humedad se optimiza a favor de una baja
20 movilidad, reactividad lenta, pero hay suficiente agua para inhibir la reactividad de radicales libres. El contenido de humedad del componente de salvado estabilizado puede variar de aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 13 % en peso, con respecto al peso del componente de salvado estabilizado y la actividad de agua puede ser inferior a aproximadamente 0,7, preferiblemente de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,5.

25 La estabilización de la fracción gruesa, tanto si se lleva a cabo antes como después de la trituración, puede llevarse a cabo sin alteración alguna o sustancial de la distribución de tamaño de partículas de la fracción o componente sometido a la estabilización. Por ejemplo, en las realizaciones preferidas de la invención, la fracción triturada o molida estabilizada o la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida puede tener la misma o sustancialmente la misma
30 distribución de tamaño de partículas que la fracción gruesa triturada o molida antes de estabilizarla. En las realizaciones de la invención, la estabilización puede aumentar o disminuir el contenido de humedad de la fracción gruesa, lo que a su vez puede modificar la distribución de tamaño de partículas. Por ejemplo, la estabilización por calor puede secar la fracción gruesa no triturada o triturada y provocar algún encogimiento o reducción de los tamaños de partícula. También, el aumento del contenido de humedad durante la estabilización, tal como por inyección de vapor, puede dilatar la fracción gruesa no triturada o triturada y aumentar los tamaños de partículas. Es preferible que no se
35 produzcan ni ganancias ni pérdidas del contenido de humedad durante la estabilización y, por lo tanto, no debería haber ningún cambio real en el tamaño de partículas debido al cambio de humedad durante el tratamiento con calor. Sin embargo, si el contenido de humedad cambia durante la estabilización del tratamiento con calor, este está dentro del intervalo deseado, por ejemplo, de 9 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, y la distribución de tamaño de partículas permanece dentro del intervalo deseado. Por lo tanto, incluso si el contenido de humedad cambia durante el
40 tratamiento con calor, la fracción gruesa estabilizada, triturada o molida o el componente de salvado estabilizado, triturado o molido puede tener una distribución de tamaño de partículas de al menos aproximadamente 40 % en peso de la fracción o componente estabilizado que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, y teniendo menos de o igual a aproximadamente 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros. En las realizaciones preferidas, la fracción gruesa triturada o molida estabilizada puede tener una
45 distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual a 500 micrómetros, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, e inferior a aproximadamente 60 % en peso a 149 micrómetros, totalizando los porcentajes a un total de 100 % en peso.

50 Más preferiblemente, la fracción gruesa triturada o molida estabilizada puede tener una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 25 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual a 500 micrómetros, de aproximadamente 45 % en peso a aproximadamente 60 % en peso superior o igual a
55 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, y de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 30 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando los porcentajes a un total de 100 % en peso.

La estabilización de la fracción gruesa puede ser de forma discontinua, semidiscontinua o continua, siendo esta última la preferida. Recipientes de calentamiento conocidos, tales como ollas discontinuas, mezcladores, tambores rotatorios, mezcladores continuos, y extrusoras se pueden utilizar para calentar la fracción gruesa para estabilizarla. El aparato de calentamiento puede ser recipientes encamisados provistos de camisas de calentamiento o enfriamiento para un control externo de la temperatura de estabilización y/o boquillas de inyección de vapor para la inyección directa de humedad y calor dentro de la fracción gruesa. En otras realizaciones, se puede utilizar radiación infrarroja (IR) o energía para calentar la fracción de salvado gruesa para estabilizarla. En una realización preferida, se puede emplear un recipiente de cocción de salvado Lauhoff fabricado por Lauhoff para la estabilización de la fracción gruesa de modo continuo. En realizaciones donde la molienda o molturación se realizan simultáneamente con la
60
65

estabilización térmica, se pueden emplear rodillos calentadores. En dichas realizaciones, la temperatura y el contenido de humedad se pueden ajustar a un valor superior para acortar el tiempo de estabilización para ajustarse a un tiempo de molienda deseado para conseguir una distribución del tamaño de partículas buscada.

5 En otras realizaciones de la invención, al menos una, o todas, las fracciones gruesas trituradas retenidas o recuperadas y la otra fracción gruesa triturada, o de molino de separación, se pueden estabilizar o inactivarse enzimáticamente usando un agente de estabilización comestible, o tratamiento en solitario o junto con el tratamiento térmico. Sin embargo, como método para estabilizar la fracción gruesa se prefiere estabilización por calor solamente. Los ejemplos de agentes estabilizantes comestibles que se pueden emplear en una cantidad eficaz para la estabilización hasta un nivel de estabilización antes del
10 mezclado de la fracción gruesa con la fracción fina son bisulfatos, bisulfitos, metabisulfitos, y metabisulfatos alcalinos comestibles, tales como metabisulfito de sodio, ácidos orgánicos, tales como ácido sórbico, dióxido de azufre, cistina, ácido tioglicólico, glutatión, sulfuro de hidrógeno, otros agentes reductores comestibles, y mezclas de los mismos.

15 En las realizaciones de la invención, la fracción gruesa tratada con calor se puede dejar enfriar al aire ambiente. En otras realizaciones, el enfriamiento de la fracción gruesa triturada o molida después del tratamiento térmico se puede controlar de forma opcional para minimizar adicionalmente la gelatinización del almidón no deseada. Según algunas realizaciones de la invención, se prefiere un enfriamiento rápido de la fracción gruesa calentada, por ejemplo, con aire ambiental refrigerado o de temperatura ambiente. La fracción gruesa tratada con calor se puede enfriar a una temperatura de superficie preferiblemente inferior a aproximadamente 60 °C en el transcurso 60 minutos. Generalmente, no se produce
20 ninguna gelatinización significativa adicional en la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida a temperaturas inferiores a aproximadamente 60 °C. A continuación, la fracción gruesa tratada térmicamente se puede enfriar a temperatura ambiente, o aproximadamente 25 °C. En las realizaciones de la invención, la velocidad de enfriamiento promedio utilizada para conseguir una temperatura superficial de aproximadamente 25 °C puede ser un descenso de temperatura de aproximadamente 1 °C/min a aproximadamente 3 °C/min.

25 La velocidad de enfriamiento se deberá seleccionar para minimizar la gelatinización del almidón adicional en la fracción gruesa después del tratamiento térmico, pero no debería ser tan rápida como para evitar la inactivación adicional de la lipasa y la LPO, en caso necesario. Si no se desea una inactivación adicional de la lipasa y la LPO, el enfriamiento se puede realizar para reducir rápidamente la temperatura de la fracción gruesa tratada térmicamente a menos de aproximadamente 60 °C. Por ejemplo, puede emplearse una mayor velocidad de enfriamiento para el
30 enfriamiento inicial de la fracción gruesa tratada con calor, seguida de una menor velocidad de enfriamiento. También, la velocidad de enfriamiento se puede seleccionar para secar la fracción gruesa tratada con calor en varios grados. Por ejemplo, los períodos más largos de enfriamiento a velocidades de enfriamiento inferiores proporcionan una fracción gruesa estabilizada más seca cuando se compara con una fracción gruesa estabilizada
35 enfriada a mayores velocidades de enfriamiento durante períodos de tiempo más cortos.

En la salida de un recipiente, por ejemplo, una tolva de compensación o una cinta transportadora que recibe la fracción gruesa tratada con calor puede estar ubicado un dispositivo de refrigeración o refrigerador. Los refrigeradores que se pueden utilizar para los procesos de la invención incluyen tubos refrigerantes o túneles refrigerantes por los que la
40 fracción gruesa tratada con calor pasa bajo la fuerza de la gravedad o sobre un dispositivo transportador. Aunque la fracción gruesa tratada térmicamente pasa por el dispositivo, se puede hacer pasar aire enfriado por encima y a través de la fracción gruesa o componente de salvado. El aire de enfriamiento agotado se puede recoger o eliminar por succión después, por ejemplo, mediante una campana, y tratarse adicionalmente en un separador ciclónico. Un enfriador preferido suministra aire de enfriamiento a diferentes regiones a lo largo de la longitud de un tubo o túnel de refrigeración.
45 Preferiblemente, el aire de enfriamiento se hace pasar por un dispositivo de refrigeración antes de ponerse en contacto con la fracción gruesa térmicamente tratada para conseguir una temperatura que es inferior a la del aire ambiente.

Tras el enfriamiento, el contenido de humedad de la fracción gruesa térmicamente tratada se puede reducir además opcionalmente mediante secado. Se prefieren temperaturas de secado inferiores a aproximadamente 60 °C para que no se produzca una gelatinización del almidón adicional durante el proceso de secado. Según la presente invención, las
50 temperaturas de secado pueden estar incluidas en un intervalo de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C. Sin embargo, el secado a temperatura ambiente es menos caro que el secado a una temperatura de enfriamiento e impedirá la gelatinización del almidón adicional en la fracción gruesa térmicamente tratada durante el secado. Preferiblemente, el secado se lleva a cabo en una atmósfera que tenga una humedad relativa baja, y se puede llevar a cabo preferiblemente en una atmósfera a presión reducida. En las realizaciones de la presente invención, el secado se puede realizar hasta que el contenido de humedad de la fracción o componente de salvado grueso tratado con calor se reduzca al intervalo de
55 aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 13 % en peso. Si el tratamiento térmico y enfriamiento opcional consiguen un contenido de humedad comprendido en un intervalo deseado, no se considera necesaria la etapa de secado.

60 Producción de la harina integral estabilizada

La fracción gruesa triturada estabilizada o fracción gruesa tratada con calor triturada y molida se puede combinar con la fracción fina para obtener una harina integral estabilizada, tal como una harina de trigo integral estabilizada de la presente
65 invención. La harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, incluye salvado, germen y endosperma, donde solamente una parte del endosperma se ha sometido a estabilización con calor, pero al menos una

parte sustancial del salvado y el germen se ha sometido a estabilización por calentamiento. La fracción gruesa tratada con calor triturada o molida, o la fracción gruesa triturada y estabilizada se obtienen preferiblemente de los mismos granos o bayas o semillas enteras de los que se obtiene la fracción de endosperma. Sin embargo, en otras realizaciones, la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida, o la fracción gruesa triturada y estabilizada puede combinarse o mezclarse con una fracción de endosperma que se deriva u obtiene a partir de una fuente diferente de granos o bayas o semillas. En cada realización, sin embargo, la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida y la fracción de endosperma se combinan o mezclan para proporcionar una harina integral estabilizada que contiene endosperma, salvado y germen en las mismas o sustancialmente las mismas proporciones relativas en que existen en el grano intacto.

La fracción gruesa tratada térmicamente, triturada o molida que comprende salvado, germen y almidón se puede mezclar, combinar, o premezclar con la fracción de endosperma usando aparatos convencionales de medición y combinación conocidos en la técnica para obtener al menos una harina integral estabilizada prácticamente homogénea. Los dispositivos ilustrativos de mezcla o combinación que se pueden emplear incluyen mezcladoras discontinuas, tambores giratorios, mezcladoras continuas y extrusoras.

En las realizaciones de la invención, la harina de trigo integral estabilizada puede tener una actividad de lipasa inferior a aproximadamente 1,5, preferiblemente inferior a aproximadamente 1,25, con máxima preferencia inferior a aproximadamente 1 micromol de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramo de la harina integral estabilizada, en base húmeda o seca. El contenido de acrilamida de la harina integral estabilizada puede ser inferior a aproximadamente 45 ppb, preferiblemente inferior a aproximadamente 30 ppb, con respecto al peso de harina integral estabilizada. Las harinas de trigo integral estabilizadas pueden tener un contenido de ácidos grasos libres inesperadamente bajo inferior a aproximadamente 10 % en peso de los lípidos totales de la harina después de un mes con almacenamiento acelerado a 95 °C, o inferior a aproximadamente 3000 ppm, con respecto al peso de la harina integral estabilizada. Las harinas de trigo integral estabilizadas pueden presentar un contenido de hexanal inesperadamente bajo inferior a aproximadamente 10 ppm después de 1 mes de almacenamiento acelerado a 95 °C, con respecto al peso de la harina integral estabilizada.

El contenido de humedad de la harina integral estabilizada, tal como la harina de trigo integral estabilizada, puede variar de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 13 % en peso, con respecto al peso de la harina integral estabilizada, y la actividad del agua puede ser inferior a aproximadamente 0,7. En realizaciones, la harina de trigo integral estabilizada puede tener un contenido de proteínas de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 14 % en peso, por ejemplo, aproximadamente 12 % en peso, un contenido de grasa de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 3 % en peso, por ejemplo, aproximadamente 2 % en peso, y un contenido de cenizas de aproximadamente 1,2 % en peso a aproximadamente 1,7 % en peso, por ejemplo, aproximadamente 1,5 % en peso, basándose cada uno de los porcentajes en el peso de la harina integral estabilizada.

La harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, puede tener una porción sustancial del almidón que no esté gelatinizado o prácticamente no gelatinizado puesto que procede de la fracción fina que no se ha sometido a estabilización térmica. Una porción más pequeña del almidón puede estar parcialmente gelatinizada en grado bajo, puesto que procede de la fracción gruesa o componente de salvado tratado térmicamente. En realizaciones de la invención, la harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada, puede tener un bajo grado de gelatinización del almidón inferior a aproximadamente 25 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 10 %, con máxima preferencia inferior a aproximadamente 5 %, medido por calorimetría de barrido diferencial (DSC). La entalpía de fusión del almidón contenido en la harina de trigo integral estabilizada puede ser superior a aproximadamente 4 J/g, preferiblemente superior a aproximadamente 5 J/g, basado en el peso de almidón en la harina integral estabilizada, medida por calorimetría de barrido diferencial (DSC), a una temperatura de aproximadamente 65 °C a aproximadamente 70 °C.

La harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada puede tener una distribución de tamaño de partículas inferior a aproximadamente 10 % en peso, preferiblemente menos de aproximadamente 5 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. del n.º 35 (500 micrómetros), de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 40 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. del n.º 60 (250 micrómetros), de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 60 % en peso, preferiblemente de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 40 % en peso sobre un tamiz estándar de EE. UU. del n.º 100 (149 micrómetros) y menos de aproximadamente 70 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 15 % en peso a aproximadamente 55 % en peso, a través de un tamiz estándar de EE. UU. del n.º 100 (149 micrómetros).

La harina de trigo integral estabilizada presenta una funcionalidad de horneado excelente con una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio en agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a aproximadamente 85 %, preferiblemente inferior a aproximadamente 82 %, por ejemplo de aproximadamente 70 % a aproximadamente 80 %. En algunos aspectos de la presente descripción, el estiramiento en el horno o el estiramiento de la galleta puede ser al menos aproximadamente 130 % del diámetro original de la masa prehorneada, tal como se mide según el método del banco de pruebas AACCI 10-53.

La presente invención es aplicable a todos y cada uno de los tipos de trigo. Aunque de manera no limitativa, los granos de trigo pueden seleccionarse de granos de trigo blando/blando y blando/duro. Pueden comprender granos de trigo blanco o rojo, granos de trigo duro, granos de trigo blando, granos de trigo de invierno, granos de trigo de primavera, granos de trigo duro o combinaciones de los mismos. Los ejemplos de otros granos enteros que se pueden procesar

según diversas o determinadas realizaciones o aspectos de la presente invención incluyen, por ejemplo, avena, maíz, arroz, arroz silvestre, centeno, cebada, alforfón, trigo bulgur, mijo, sorgo, y similares, y las mezclas de granos enteros.

La presente invención proporciona una estabilidad mejorada a la materia prima y más de un mes de período de validez, por ejemplo, 2 meses o más, en condiciones de almacenamiento aceleradas, para un ingrediente o fracción gruesa tratada con calor triturada o molida y para una harina integral estabilizada, tal como harina de trigo integral estabilizada. Se puede almacenar un producto alimenticio más estable en condiciones similares durante un período prolongado de tiempo que un producto alimenticio más estable antes de ser rancio. Puede vigilarse y medirse la presencia de ranciedad en una multiplicidad de diferentes maneras, incluyendo la prueba sensorial (por ejemplo, análisis del sabor y/u olor), mediciones del nivel de la actividad lipoxigenasa o lipasa, mediciones del nivel de ácidos grasos libres, y/o mediciones del nivel de hexanal.

En otras realizaciones de la invención, la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida o la harina integral estabilizada, tal como la harina de trigo integral estabilizada, puede combinarse, premezclarse, o mezclarse con harina de trigo refinada para obtener una harina, producto o ingrediente enriquecido, tal como una harina de trigo enriquecida. El producto de harina de trigo enriquecido puede contener la fracción gruesa tratada con calor triturada o molida o la harina integral estabilizada, tal como la harina de trigo integral estabilizada, en una cantidad de aproximadamente 14 % en peso a aproximadamente 40 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 30 % en peso, con respecto al peso total del producto de harina enriquecida, tal como el producto de harina de trigo enriquecida.

La harina integral estabilizada, tal como la harina de trigo integral estabilizada, puede emplearse para sustituir parcial o completamente la harina de trigo refinada, u otras harinas, en una variedad de productos alimenticios. Por ejemplo, en realizaciones de la invención, al menos aproximadamente 10 % en peso, como mucho 100 % en peso, por ejemplo, de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 50 % en peso de la harina de trigo refinada, puede sustituirse por la harina de trigo integral estabilizada para aumentar los valores nutricionales de los productos de harina de trigo refinada con poco, si acaso ningún perjuicio para el aspecto, textura, aroma, o sabor del producto.

La fracción gruesa tratada con calor triturada o molida y los productos integrales estabilizados, tales como los productos de trigo integral estabilizados, obtenidos en la presente invención pueden envasarse, almacenarse de forma estable y utilizarse además posterior o inmediatamente en la producción de alimentos. Los productos de fracción gruesa tratada con calor triturada o molida y los productos de harina están listos para procesarse adicionalmente para obtener los productos alimenticios acabados añadiendo agua y otros ingredientes alimenticios aplicables, mezclándolos, conformándolos, y horneándolos o friéndolos, etc. Las masas que contienen el salvado estabilizado y las harinas integrales, tales como harina de trigo integral, pueden producirse y maquinarse continuamente, por ejemplo, triturarse, laminarse, moldearse, extrudirse, o coextrudirse, y cortarse, sobre una base de producción de masa. Los productos integrales acabados (p. ej., galletas de mantequilla, galletas, galletas saladas, barritas de aperitivo, etc.) tienen una textura agradable con la característica de un sabor de grano entero.

La fracción gruesa tratada con calor triturada o molida y los productos de harinas integrales estabilizados, tales como los productos de harina de trigo integral estabilizados de la presente invención pueden utilizarse en una amplia variedad de productos alimenticios. Los productos alimenticios incluyen productos alimenticios farináceos, y en particular productos de tipo galleta de mantequilla, productos de pasta, cereales listos para consumir, y confites. Se describe que los productos alimenticios son productos de panadería o aperitivos. Los productos de panadería pueden incluir galletas, galletas saladas, masa de pizza, masa de tarta, panes, bagels, pretzels, brownies, magdalenas, gofres, pasteles, tartas, panes rápidos, bollos dulces, donuts, barritas de frutas y granos, tortillas, y productos de panadería precocidos. Los productos de aperitivo pueden incluir patatas fritas y aperitivos extrudidos inflados. El producto alimenticio puede seleccionarse particularmente de galletas, galletas saladas, y barritas crujientes de cereales. Las galletas pueden ser productos de tipo barrita, extrudidos, coextrudidos, triturados y cortados, moldeados por rotación, cortados con alambre, o galletas de tipo sándwich. Los ejemplos de galletas que se pueden producir incluyen barquillos azucarados, galletas rellenas de fruta, galletas con pepitas de chocolate, galletas azucaradas, y similares. Los aperitivos pueden ser aperitivos de tipo fermentado o tipo no fermentado, y galletas Graham. Los productos horneados producidos según la presente descripción pueden ser galletas saladas o galletas que tienen un contenido de grasa entera o puede ser un producto de contenido de grasa reducido, bajo en grasa o sin grasa.

Además del agua, los ingredientes de la galleta, galleta salada, y aperitivo que pueden premezclarse con la harina integral estabilizada, tales como harina de trigo integral estabilizada de la presente invención, incluyen harina de trigo enriquecida, manteca vegetal, azúcar, sal, jarabe de maíz con un alto contenido en fructosa, agentes de la fermentación, agentes saborizantes y agentes colorantes. Las harinas de trigo enriquecidas que se pueden utilizar incluyen harinas de trigo enriquecidas con niacina, hierro reducido, mononitrato de tiamina y riboflavina. Las mantecas vegetales que se pueden utilizar incluyen aquellas preparadas de aceite de soja parcialmente hidrogenado. Los agentes de la fermentación que se pueden utilizar incluyen fosfato de calcio y bicarbonato de sodio. Los agentes colorantes que se pueden utilizar incluyen agentes colorantes vegetales tales como extracto de annato y oleorresina de cúrcuma.

La masa preparada según la presente descripción incluye masa que comprende diversas combinaciones de ingredientes de las galletas, galletas saladas, y aperitivos anteriormente mencionados. Según algunos aspectos de la descripción, todos los ingredientes anteriores se mezclan homogéneamente y la cantidad de agua se controla

para formar una masa de la consistencia deseada. La masa puede formarse a continuación en piezas y hornearse o freírse para producir productos que tienen atributos de humedad, geometría, aspecto y textura excelentes.

La presente invención se ilustra con los siguientes ejemplos no limitativos, en donde todas las partes, porcentajes y relaciones son en peso, todas las temperaturas están en °C, y todas las temperaturas son atmosféricas a menos que se indique lo contrario. Todos los ejemplos que están fuera del alcance de las reivindicaciones se presentan únicamente con fines de referencia.

Ejemplo 1

Preparación del componente de salvado estabilizado

En este ejemplo, se prepara un componente de salvado de trigo estabilizado, a partir de la molienda de trigo blanco blando y rojo blando atemperado, y se analiza para determinar la actividad de lipasa, la retención de vitaminas y el perfil de fusión del almidón del salvado. Las fracciones de salvado que tienen dos distribuciones de tamaño de partículas diferentes se sometieron a tratamientos de estabilización según la presente invención. El componente de salvado de tamaño de partículas más grande tiene una distribución de tamaño de partículas representativa de una fracción gruesa no triturada. El componente de salvado de tamaño de partículas más pequeño tiene una distribución de tamaño de partículas representativa de un componente grueso triturado o molido.

El componente de salvado estabilizado se obtuvo mediante el uso de salvado obtenido a partir de la molienda de trigo blanco blando y rojo blando atemperado en la producción de harina refinada blanca. El salvado, un subproducto de la molienda, tiene un contenido de ceniza de aproximadamente 6,5 % en peso, un contenido de humedad de aproximadamente 9,5 % en peso a aproximadamente 11,5 % en peso, una humedad relativa de aproximadamente 45 % y una densidad de aproximadamente 0,29 g/ml. Se midió el tamaño de partículas del salvado mediante el uso de un agitador Ro-Tap con la ayuda de perlas de silicio para romper los agregados de partículas. Se sometieron a prueba dos tamaños de partícula de salvado. El tamaño más grande tenía al menos aproximadamente 80 % del peso de la partícula de > 500 micrómetros y el tamaño más pequeño tenía aproximadamente 25 % del peso de la partícula de > 500 micrómetros, aproximadamente 35 % > 250 micrómetros, aproximadamente 20 % > 149 micrómetros y aproximadamente 20 % < 149 micrómetros. El salvado contenía aproximadamente de 22 % a 25 % de almidón según lo determinado por medición yodo métrica. Antes de la estabilización, la humedad del salvado se ajustó colocando el salvado en un recipiente cubierto sobre una solución salina saturada, durante una semana a temperatura ambiente, para ajustar uniformemente la humedad del salvado en incrementos de aproximadamente 9,5 % en peso a aproximadamente 14 % en peso del contenido de humedad según la Tabla 1:

Tabla 1: Contenido de humedad del salvado

Solución salina saturada	Humedad relativa	Contenido de humedad del salvado, % en peso
Mg(NO ₃) ₂ •6H ₂ O	52 %	de 9,56 % a 10,23 %
Sala de atmósfera controlada	63 %	de 11,19 % a 11,58 %
NH ₄ Cl	79 %	de 13,94 % a 14,09 %

Se colocó el salvado, 20 g, en una bolsa de papel metalizado precintada con tres a cuatro pequeños orificios para liberar la presión al calentarlo. El estudio se realizó según un diseño experimental descrito en la Tabla 2. El salvado se calentó en un horno de convección de aire forzado precalentado (Thelco modelo 26, Precision Scientific) durante 3, 5 o 7 minutos y a 100 °C, 120 °C o 140 °C para determinar el efecto de la humedad del salvado, el tiempo de calentamiento y la temperatura en la actividad de lipasa, la retención de vitaminas y la cristalinidad del almidón. Después del calentamiento, el salvado se enfrió en un refrigerador y a continuación se introdujo en un recipiente sellado y se almacenó congelado. Se analizó una porción de la muestra para determinar: 1) la actividad de lipasa, 2) la retención de vitaminas y 3) la cristalinidad del almidón.

Determinación de la actividad de lipasa

Se halló que la actividad de lipasa, expresada como producto de hidrólisis en µmoles formados por hora por unidad de peso de salvado, era de 5,87 µmoles/h/0,1 g para el material de partida de tamaño de partícula pequeño y se redujo a 1,2 µmoles/h/0,1 g a 11,58 % en peso de humedad después del tratamiento de estabilización durante 5 minutos a 120 °C. Para el tamaño de partículas mayor, se halló que la actividad de lipasa era de 4,23 µmol/h/0,1 g para el material de partida y se redujo a 0,83 µmol/h/0,1 g para el material de 11,19 % en peso de humedad tratado durante 5 minutos a 120 °C.

El diseño experimental para las condiciones de estabilización para tratar la fracción gruesa y la fracción o componente de salvado grueso triturado se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2: Diseño Experimental para la estabilización de la fracción gruesa y de la fracción o componente de salvado grueso triturado

Est.	Análisis	Bloque	Factor 1 A: Temp. (°C)	Factor 2 B: Tiempo, min.	Factor 3 C. Humedad, % peso
5	5	Bloque 1	100	3	14,5
3	8	Bloque 1	100	7	12,5
7	9	Bloque 1	100	7	14,5
1	10	Bloque 1	100	3	12,5
9	4	Bloque 1	120	5	13,5
10	6	Bloque 1	120	5	13,5
2	1	Bloque 1	140	3	12,5
8	2	Bloque 1	140	7	14,5
6	3	Bloque 1	140	3	14,5
4	7	Bloque 1	140	7	12,5

- 5 La retención de vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) y B2 (riboflavina) en el salvado estabilizado se midió según métodos estándar de análisis de vitaminas en alimentos.

10 El método utilizado para la medición de la actividad de lipasa esterasa implica: 1) dispersar el salvado en tampón de pH 7,0, 2) añadir sustrato de butirato de *p*-nitrofenilo (Sigma 9876) y 3) realizar la medición espectrofotométrica de la actividad de esterasa del salvado mediante la liberación de *p*-nitrofenol, que absorbe a 340 nm.

Medición de la actividad de lipasa

15 Los materiales, instrumentos y métodos empleados para medir la actividad de lipasa son:

Materiales:

1. Tampón fosfato (pH 7,5, 0,2 M);
- 20 2. Butirato de *p*-nitrofenilo (Sigma, 1045-5G);
3. acetonitrilo;

Instrumentos:

- 25 1. Espectrofotómetro;
2. Centrífuga, capaz de 1000 g.

Métodos:

1. Disolver *p*-NPB en acetonitrilo, de manera que su concentración sea de 10,75 mM;
2. Se pesan muestras en tubos de centrifuga (para el trigo: harina — 0,05 g, salvado y germen - 0,02 g).
- 35 Añadir 9 ml de tampón fosfato (pH 7,5) al tubo;
3. Añadir 1 ml de *p*-NPB 10,75 mM, la concentración final de *p*-NPB es de 1,075 mM en la solución de muestra). Registrar el tiempo exacto de la adición de *p*-NPB; agitar el tubo de muestra, dejarlo en un baño de agua a 25 °C;
- 40 4. Después de 20 min de adición de *p*-NPB, se centrifugar la muestra a 1000 g durante 5 min;
5. Medir la absorbancia del sobrenadante a 400 nm exactamente 30 min. después de la adición de *p*-NPB;
6. Usar una mezcla de tampón fosfato (9 ml) y *p*-NPB (1 ml) como blanco, dejar el blanco en un baño de agua
- 45 a 25 °C durante 20 minutos, centrifugar, y medir la absorbancia al cabo de 30 min a 400 nm;
7. Calcular la absorbancia de la muestra sustrayendo la absorbancia del blanco;

50 La actividad de lipasa puede expresarse como:

$$\text{(muestra A - blanco A)/tiempo de unidad/peso unitario}$$

o:

$\mu\text{moles de } p\text{-NPB hidrolizado/hora/0,1 g}$

5 Cálculo:

$\mu\text{moles de } p\text{-NPB hidrolizado} = (A-0,0555)/1.380$ realizar ajustes según el momento y el peso de la muestra.

Nota:

- 10 1.) el $p\text{-NPB}$ puede hidrolizarse con agua. Así, la solución de sustrato (en acetonitrilo) debe manejarse cuidadosamente para evitar el agua. Mezclando el sustrato con tampón (el blanco) se obtendrá una absorbancia de 0,25-0,3 en esta prueba;
- 15 2.) Cada día debe analizarse un blanco.

Determinación de la cantidad y el perfil de fusión cristalina de almidón en el salvado

20 El método de determinación de la cantidad de almidón en el salvado se ha adoptado y modificado a partir de "Iodometric Determination of Amylose" Iodine Sorption: "Blue Value" de G.A. Gilbert y S.P. Spragg, Methods in Carbohydrate Chemistry, volumen IV, p.168 (1964). El método implica: 1) disolución del almidón en álcali en ebullición, 2) neutralización y tamponación, 3) unión de yodo de las regiones de amilosa del almidón y 4) medición espectrofotométrica a 600 nm y 525 nm del complejo almidón-yodo formado.

25 Para determinar la cantidad de almidón en el salvado, se prepara una solución estándar de almidón de trigo purificada:

Preparación de una solución estándar de almidón de trigo

30 Pesar 35 mg de almidón de trigo purificado (Aytex-P, ADM) con precisión (lo más cerca de 0,1 μg) y colocar en un matraz volumétrico de 100 ml.

1. Añadir 1 ml de NaOH 1N y 2 ml de agua destilada.
- 35 2. Colocar 3 minutos en un baño de agua hirviendo. Agitar suavemente cada minuto para dispersar la muestra. Retirar al cabo de 3 minutos y enfriar a temperatura ambiente.
3. Añadir 9 ml adicionales de NaOH 1N.
- 40 4. Llenar el matraz hasta una marca de 100 ml con agua destilada.
5. Calcular la concentración final de almidón [$\mu\text{g/ml}$].

Obtener la curva de la concentración de almidón

45 Dosificar 0, 2, 5, 10 y 15 ml de patrón de amilosa en cada uno de los matraces volumétricos de 5, 100 ml.

1. Dosificar 15, 13, 10, 5 y 0 ml de NaOH 0,1 N en cada uno de los cinco matraces volumétricos de 100 ml de modo que cada matraz contenga ahora 15 ml de solución.
- 50 2. Añadir 15 ml de HCl 0,1 N en cada matraz para neutralizar.
3. Añadir agua destilada hasta llenar tres cuartas partes del matraz.
4. Pesar en cada matraz de 100 ml, de 0,07 g a 0,09 g de hidrógeno tartrato de potasio para tamponar la solución.
- 55 5. Añadir 1 ml de solución de yodo (200 mg de yodo y 2 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua).
6. Llenar el matraz hasta la marca de 100 ml, mezclar vigorosamente y dejar reposar 30 minutos para que el color se estabilice.
- 60 7. Leer la absorbancia a 620 nm y 525 nm utilizando cubetas estándar de 3 ml.
8. Obtener una curva estándar, abs 620 nm frente a [almidón $\mu, \text{g/ml}$]. Verificar la linealidad en el intervalo de concentración estudiado. El coeficiente de regresión lineal debería ser al menos $R^2 = 0,99$.
- 65

Preparación de muestras de salvado para la medición

1. Pesar 75 mg de salvado con precisión (a 0,1 µg) y colocar en un matraz volumétrico de 100 ml.
2. Seguir las etapas 2 a 5 anteriores.

* La agitación vigorosa del matraz durante el tratamiento con álcali ayudará a dispersar el salvado.

Determinar la cantidad de almidón en el salvado

Dosificar 2, 5 y 10 ml de la solución de muestra de salvado preparada anteriormente en cada uno de los tres matraces volumétricos de 100 ml.

1. Añadir, 13 ml, 10 ml y 5 ml de NaOH 0,1 N de modo que cada matraz tenga ahora 15 ml de solución.
2. Añadir 15 ml de HCl 0,1 N para neutralizar.
3. Seguir las etapas 8 a 13 anteriores.
4. Utilizar la ley de Beer ($y = mx + b$) para calcular la concentración de almidón en la muestra.

El contenido de almidón, de las muestras de salvado y el salvado estabilizado comercial líder se calcula según la fórmula:

$$\text{Abs } 620 \text{ nm} / (\text{pendiente de la curva est. para el almidón de trigo purificado}) = [\text{almidón, } \mu\text{g/ml}] + \text{intersección-y (usualmente 0)} * 100 \text{ ml.}$$

La proporción de almidón en las muestras de salvado se calcula como:

$$(\text{peso de almidón medido, } \mu\text{g} / \text{peso total de la muestra de salvado, } \mu\text{g}) * 100 = \% \text{ de almidón en el salvado.}$$

Los resultados se muestran en la Fig. 1 y en la Tabla 3:

Tabla 3: Proporción de almidón en las muestras de salvado

	peso de almidón medido (mg)	Salvado a 620	Salvado a 525	Relación	Salvado pesado (mg)	% en peso de almidón
Almidón de trigo purificado	9,91	0,065	0,048	1,35		
	19,82	0,137	0,114	1,2		
	29,74	0,199	0,161	1,24		
	29,74	0,198	0,16	1,24		
Salvado comercial	25,37	0,085	0,095	0,89	74,79	41,96 %
	21,34	0,143	0,159	0,9		35,30 %
Salvado	16	0,052	0,051	1,02	72,03	22,21 %
	16,31	0,053	0,049	1,08		22,64 %
	15,08	0,098	0,097	1,01		20,93 %

Determinación del perfil de fusión cristalina del almidón en el salvado

El perfil de fusión cristalina del almidón en el salvado estabilizado se determinó mediante calorimetría diferencial de barrido estándar. El instrumento y el método utilizados para caracterizar el almidón en el salvado son:

Instrumento: Calorímetro de barrido diferencial (DSC) de TA Instruments, que incluye TA Instruments DSC Q1000 Controller software, TA Instruments Q1000 Module y la unidad TA Instruments RCS.

-Cubetas de muestras: Cápsulas de alta presión de acero inoxidable Perkin-Elmer con junta tórica.

-Preparación de las muestras: Los ingredientes se mezclan con agua en una relación de sólidos a agua 1:1. Se pesan aproximadamente de 35 a 50 miligramos del ingrediente húmedo en una bandeja de muestra para DSC.

-Calibración del instrumento: el DSC se calibra en parámetros de línea de base, constante de celda, temperatura y capacidad calorífica de un modo conocido:

Calibración de línea de base: utilizando dos cubetas de muestra vacías, se determina la pendiente de la línea de base y el desplazamiento de la línea de base en un intervalo de temperaturas de 10 °C a 150 °C, con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min.

5 - Calibración de la constante de celda: como patrón se usa el indio.

- Calibración de la temperatura: calibrada en un punto utilizando indio.

10 Se utiliza el programa informático de análisis de datos de calibración de DSC para efectuar las correcciones de calibración de DSC adecuadas con el instrumento en el modo de calibración. La capacidad calorífica se calibra utilizando zafiro, de un modo conocido. La muestra se caracteriza con el DSC en el modo estándar utilizando una rampa de 5 °C de 50 °C a 100 °C. Para analizar los resultados, la curva de flujo térmico total se integra de 57,5 °C a 80 °C para medir la entalpía del almidón cristalino en la muestra de salvado. Las muestras se analizan al menos por duplicado.

15 Los resultados del análisis de DSC para el salvado que contiene almidón se muestran en la Fig. 2. El comienzo de la fusión se produce a aproximadamente 57,5 °C, el pico endotérmico o punto de fusión es aproximadamente 67 °C, y el punto final de la fusión se produce a aproximadamente 80 °C. El *software* calcula la entalpía del pico endotérmico en J/g de almidón en el salvado. Los valores de entalpía del almidón para el salvado estabilizado estaban comprendidos de aproximadamente 4,8 J/g de almidón a aproximadamente 5,3 J/g de almidón y son prácticamente más altos que los
20 valores de entalpía de almidón de 0,8 J/g registrados para el salvado estabilizado comercial líder.

En la Tabla 4 y 5 se resumen, para el tratamiento de estabilización de ocho muestras de muestras de salvado de partículas grandes y ocho muestras de salvado de partículas más pequeñas: 1) la cantidad de actividad enzimática de lipasa, base húmeda y seca, 2) la reducción del porcentaje de actividad de lipasa, 3) las condiciones de tratamiento, incluida la humedad, el tiempo y la temperatura, 4) el contenido de vitaminas, 5) la entalpía de fusión del almidón y 6) el porcentaje de almidón gelatinizado. Como se indica en las Tablas 4 y 5, el tratamiento del salvado con un contenido de humedad de 11,5 % durante 5 minutos a 120 °C redujo la actividad de lipasa de 5,87 µmoles/h/0,1 g de salvado (dwb) hasta 1,23 µmoles/h/0,1 g y de 4,23 µmoles/h/0,1 g (dwb) hasta 0,83 µmoles/h/0,1 g, dependiendo del tamaño de partículas del salvado. Los resultados también indican que se retiene 86 % de vitamina E, 91 % de vitamina B1 y 88 % de vitamina B2. Además, como se muestra en la Tabla 5, el grado de gelatinización del almidón se controla a < 10 % del almidón total en el material tratado:
25
30

Tabla 4: Efecto de las condiciones de estabilización en la actividad de lipasa, retención de vitaminas y la gelatinización del almidón

35

Fracción gruesa														
A	Salvado		Factor 1	Factor 2	Factor 3	humedad real, % en peso		Actividad de lipasa (µmoles/h/0,1 g)		% reducción		retención de vitaminas		
Est.	Análisis	Bloque	A: temp., °C	B: tiempo, min.	C: humedad, % en peso	antes del tratamiento	después del tratamiento	base húmeda	base seca	base húmeda	base seca	E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)
1	10	Bloque 1	100	3	12,5	10,23	9,45	2,58	2,85	39,01	32,62	0,6	0,43	0,15
5	5	Bloque 1	100	3	14,5	14,09	13,14	2,04	2,35	51,77	44,44			
3	8	Bloque 1	100	7	12,5	10,23	9,92	1,9	2,11	55,08	50,12	0,6	0,42	0,14
7	9	Bloque 1	100	7	14,5	14,09	12,54	0,9	1,03	78,72	75,65			
9	4	Bloque 1	120	5	13,5	11,19	10,97	0,76	0,83	82,03	80,38			
10	6	Bloque 1	120	5	13,5	11,19	9,23	0,87	0,98	79,43	76,83			
2	1	Bloque 1	140	3	12,5	10,23	9,81	1,05	1,16	75,18	72,58			
6	3	Bloque 1	140	3	14,5	14,09	11,16	0,57	0,64	86,52	84,87	0,6	0,39	0,15
4	7	Bloque 1	140	7	12,5	10,23	5,59	0,88	0,94	79,2	77,78			
8	2	Bloque 1	140	7	14,5	14,09	8,59	0,35	0,38	91,73	91,02			
11	11	Bloque 1	140	7	13,5	11,19	9,37	0,63	0,7	85,11	83,45			

12	12	Bloque 1	140	3	13,5	11,19	9,93	1,98	2,2	53,19	47,99	0,6	0,42	0,14
Material de partida (salvado A humedad = 10,51 %)								3,83	4,23			0,7	0,43	0,16

Tabla 5: Efecto de las condiciones de estabilización en la actividad de lipasa y la gelatinización del almidón

Salvado triturado													
Est.	Análisis	Bloque	Factor 1	Factor 2	Factor 3	humedad real, % peso		Actividad de lipasa (μmoles/h/0,1 g)		% reducción		Gelatinización del almidón	
			A: temp., °C	B: tiempo, min.	C: humedad, % en peso	antes del tratamiento	después del tratamiento	base húmeda	base seca	base húmeda	base seca	Entalpía de fusión del almidón (J/g)	% gelatinizado
1	10	Bloque 1	100	3	12,5	9,56	7,49	3,51	3,79	35,6	35,43	5,327	0
5	5	Bloque 1	100	3	14,5	13,94	11,87	2,15	2,44	60,55	58,43		
3	8	Bloque 1	100	7	12,5	9,56	7,7	2,5	2,71	54,13	53,83		
7	9	Bloque 1	100	7	14,5	13,94	11,36	1,08	1,22	80,18	79,22		
9	4	Bloque 1	120	5	13,5	11,58	9,6	1,12	1,23	79,45	79,05	4,784	8,86
10	6	Bloque 1	120	5	13,5	11,58	9,38	1,19	1,32	78,17	77,51		
2	1	Bloque 1	140	3	12,5	9,56	8,35	1,57	1,71	71,19	70,87		
6	3	Bloque 1	140	3	14,5	13,94	11,79	0,88	0,99	83,85	83,13	4,943	5,83
4	7	Bloque 1	140	7	12,5	9,56	7,64	1,17	1,27	78,53	78,36		
8	2	Bloque 1	140	7	14,5	13,94	9,13	0,7	0,77	87,16	86,88		
Material de partida (salvado triturado, humedad = 7,19 %)								5,45	5,87			5,249	

5 **Ejemplo 2**

Preparación del componente de salvado estabilizado

10 En este ejemplo, se prepara un componente de salvado de trigo estabilizado, que contiene salvado, germen y almidón a partir de la molienda de harina de trigo integral rojo blando sin atemperar, y se analiza para determinar la actividad de lipasa, la retención de vitaminas y la formación de acrilamida en la mezcla de componentes estabilizada.

15 Se obtuvo un componente de salvado estabilizado mediante el uso de salvado y germen obtenido a partir de la molienda de trigo rojo blando sin atemperar utilizado en la producción de harina de trigo integral. La mezcla tiene un contenido de cenizas de 5,5 % en peso, un contenido de humedad de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 12 % en peso, una humedad relativa de aproximadamente 50 % y una densidad de aproximadamente 0,2 g/ml a 0,4 g/ml. Se midió el tamaño de partículas del componente de salvado mediante el uso de un agitador Ro-Tap con la ayuda de perlas de silicio para romper los agregados de partículas. Los tamaños de partícula de la mezcla fueron: aproximadamente 17 % - 20 % en peso de partículas de > 500 micrómetros; de aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 42 % en peso de < 500 micrómetros pero > 250 micrómetros; de aproximadamente 18 % en peso a aproximadamente 20 % en peso de < 250 pero > 149 micrómetros; y aproximadamente 20 % en peso de < 149 micrómetros. La mezcla contenía de aproximadamente 22 % en peso a aproximadamente 25 % en peso de almidón, según lo determinado por medición yodométrica como en el ejemplo 1. Antes de la estabilización, se ajustó la humedad como en el ejemplo 1, para ajustar uniformemente la humedad del componente de salvado en incrementos de aproximadamente 9,5 % hasta 14 % de
25 contenido de humedad según la Tabla 6:

Tabla 6: Contenido de humedad del componente de salvado

Solución salina saturada	Humedad relativa	Humedad del componente de salvado, % en peso
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	52 %	10,84 %
Sala de atmósfera controlada	63 %	11,33 %
NH ₄ Cl	79 %	12,89 %

5 Se colocó el componente de salvado, 200 g, en una bolsa de papel metalizado precintada con tres a cuatro pequeños orificios para liberar la presión al calentarlo. El estudio se realizó según un diseño experimental descrito en la Tabla 7. El salvado se calentó en un horno de convección de aire forzado precalentado (Thelco modelo 26, Precision Scientific) durante 3, 5 o 7 minutos y a 100 °C, 120 °C o 140 °C para determinar el efecto de la humedad del salvado, el tiempo de calentamiento y la temperatura en la actividad de lipasa, la retención de vitaminas y la producción de acrilamida. Después del calentamiento, el componente de salvado se enfrió en un refrigerador y a 10 una continuación se introdujo en un recipiente sellado y se almacenó congelado. Se analizó una porción de la muestra para determinar: 1) la actividad de lipasa, 2) la retención de vitaminas y 3) el contenido de acrilamida.

Determinación de la actividad de lipasa

15 Se halló que la actividad de lipasa, expresada como producto de hidrólisis en μ moles formados por hora por unidad de peso de salvado, era de aproximadamente 4,4 μ moles/h/0,1 g para el material de partida y se redujo a aproximadamente 1,25 a 1,52 μ moles/h/0,1 g a 11,33 % en peso de humedad después del tratamiento de estabilización durante 5 minutos a 120 °C. La medición de la actividad de lipasa fue según el método indicado en el ejemplo 1.

20 El diseño experimental para las condiciones de estabilización para el componente de salvado se muestra en la Tabla 7, donde el factor 3 es un número arbitrario de contenido de humedad usado por los expertos estadísticos como marcador de posición hasta que se determinan los valores reales de humedad baja, media y alta como se muestra en la Tabla 9:

Tabla 7: Diseño experimental para la estabilización del componente de salvado

25

Est.	Análisis	Bloque	Factor 1 A: Temp. (°C)	Factor 2 B: Tiempo, min.	Factor 3 C: Humedad, % peso
5	5	Bloque 1	100	3	14,5
3	8	Bloque 1	100	7	12,5
7	9	Bloque 1	100	7	14,5
1	10	Bloque 1	100	3	12,5
9	4	Bloque 1	120	5	13,5
10	6	Bloque 1	120	5	13,5
2	1	Bloque 1	140	3	12,5
8	2	Bloque 1	140	7	14,5
6	3	Bloque 1	140	3	14,5
4	7	Bloque 1	140	7	12,5

Determinación de acrilamida

30 La formación de acrilamida en el salvado estabilizado se midió según "Acrylamides by LCMS", Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, Centro para la Seguridad Alimentaria y la Nutrición Aplicada, Oficina de Alimentos y Bebidas Vegetales y Lácteas, "Detection and Quantization of Acrylamide in Foods". (2002).

Determinación de la cantidad de almidón en el componente de salvado

El método para determinar el almidón en el componente de salvado es según el método indicado en el ejemplo 1. Los resultados se muestran en la Fig. 3 y en la Tabla 8:

40

45

Tabla 8: Proporción de almidón en las muestras

ID Muestra	peso de almidón medido (mg)	620 nm	525 nm	relación	Peso salvado/germen (mg)	% en peso de almidón
Almidón de trigo purificado	0	0	0			
	12,5	0,079	0,061	1,3		
	31,2	0,207	0,156	1,33		
	62,4	0,405	0,298	1,36		
	93,6	0,605	0,443	1,37		
Salvado/germen	33,73	0,113	0,104	1,09	132,81	25,40 %
	34,18	0,229	0,213	1,08	132,81	25,74 %
Salvado/germen	68,55	0,104	0,098	1,06	15,52	22,64 %
	137,1	0,217	0,205	1,06	32,39	23,62 %

5 En la Tabla 9 se resumen, para la estabilización de ocho muestras del componente de salvado estabilizado: 1) la cantidad de actividad enzimática de lipasa, base húmeda y seca, 2) la reducción del porcentaje de actividad de lipasa, 3) las condiciones de tratamiento, incluida la humedad, el tiempo y la temperatura, 4) el contenido de vitaminas, y 5) la acrilamida formada.

10 *Tabla 9: Efecto de las condiciones de estabilización del componente de salvado en la actividad de lipasa, retención de vitaminas y formación de acrilamida*

Factor 1	Factor 2	Factor 3	humedad real, % en peso		Actividad de lipasa, μ moles/h/0,1 g		% reducción de lipasa		retención de vitaminas			acrilamida (ppb)
			antes del tratamiento	después del tratamiento	base húmeda	base seca	base húmeda	base seca	E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)	
Ninguno	Ninguno	10,12			4,03	4,43			1,7	0,38	0,16	50,5
100	3	12,5	10,84	9,64	2,69	2,98	33,18	32,71	1,6	0,38	0,15	33
100	7	14,5	12,89	12,4	1,55	1,77	61,42	59,92	1,5	0,4	0,15	95,7
120	5	13,5	11,33	10,06	1,12	1,25	72,2	71,87	1,7	0,43		56,1
120	5	13,5	11,33	10,56	1,36	1,52	66,21	65,62	1,6	0,37	0,13	81,1
140	3	12,5	10,84	9,83	1,86	2,06	53,87	53,45	1,7	0,41	0,16	67,8
140	7	14,5	12,89	10,84	0,48	0,54	88	87,75	1,8	0,35	0,15	138
Mezcla de germen y salvado estabilizado comercial, Grain Millers					1,25							132

15 Como se indica en la Tabla 9, el tratamiento del componente de salvado con un contenido de humedad en el intervalo de aproximadamente 9 % en peso a aproximadamente 13 % en peso durante un período de aproximadamente 3 minutos a aproximadamente 7 minutos a una temperatura de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C redujo la actividad de lipasa de aproximadamente 4,4 μ moles/hora/0,1 g para el material de partida sin estabilizar hasta el intervalo de 2,98 μ moles/hora/0,1 g a aproximadamente 0,5 μ moles/hora/0,1 g, dependiendo de las condiciones de tratamiento, proporcionando el tiempo de tratamiento más largo, el mayor contenido de humedad y la temperatura de tratamiento más alta la menor actividad de lipasa. Los resultados también indican que los valores de vitamina E (tocoferol), vitamina B1 (tiamina) y vitamina 2 (riboflavina) se habían mantenido bien. Además, la producción de acrilamida aumentó con las temperaturas y los tiempos de estabilización crecientes.

25 **Ejemplo 3**

Efecto de la trituración y estabilización en las características funcionales del salvado

30 En este ejemplo, se compararon el tamaño de partículas y la capacidad de retención de disolvente (SRC) de una fracción gruesa no triturada y sin estabilizar, una fracción gruesa, o componente de salvado triturado y sin estabilizar, y una fracción gruesa, o componente de salvado, triturado, estabilizado según la presente invención, con los ingredientes de salvado/germen estabilizado comerciales fabricados por Grain Millers.

Determinación de la distribución de tamaño de partículas

Se determinó el tamaño de partículas de la mezcla de salvado/germen o componente de salvado utilizando un agitador Ro-Tap. El método es aplicable a una amplia variedad de productos e ingredientes y utiliza una acción mecánica uniforme para asegurar resultados precisos y confiables. El agitador reproduce el movimiento circular y de golpeteo utilizado en el tamizado manual. El método se adaptó a partir del método del agitador RoTap ASTA 10.0 con las siguientes modificaciones y adaptaciones:

Aparato

1. Un agitador de tamiz de ensayo eléctrico Tyler RoTap (Fisher Scientific), con temporizador automático.
2. Tamices normalizados U.S. n.º 20, n.º 35, n.º 40, n.º 50, n.º 60, n.º 80, n.º 100, bandeja separadora inferior, y cubierta.
3. Equilibrio del peso, preciso hasta 0,1 g
4. Cepillos para limpiar las pantallas
5. Adyuvante del flujo de polvo de silicio (Syloid n.º 244, W.R. Grace & Co.)

Procedimiento

1. Utilice tamices tarados limpios, secados vigorosamente.
2. Pesar de forma precisa el tamaño designado de muestra (lo más próximo a 0,1 g) en un vaso de precipitados de 250 ml o 400 ml.
3. Tarar los tamices adecuados y la bandeja inferior individualmente.
4. Apile los tamices sobre el agitador con la abertura más gruesa en la parte superior y aumente la finura hasta que la apertura más fina esté en la parte inferior. Coloque la bandeja inferior debajo.
5. Transfiera la muestra cuantitativamente desde el vaso de precipitados al tamiz superior.
6. Colocar la cubierta del tamiz sobre la parte superior, a continuación la placa del agitador, el marco circular y bajar el brazo del grifo.
7. Ajustar el temporizador a 5 minutos.
8. Tras la finalización de la agitación, retire los tamices del RoTap y pese cuidadosamente cada tamiz y la bandeja por separado.

Cálculos

1. Utilizando un tamiz
 - a) $\% \text{ sobre} = \frac{(\text{peso de tamiz} + \text{material}) - \text{peso del tamiz}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$
 - b) $\% \text{ a través} = 100 - \% \text{ sobre}$
 - c) Utilizar tres tamices o más

Tamiz A (S_a), grueso, superior

Tamiz B (S_b), medio, intermedio

Tamiz C (S_c), fino, inferior

etc.

a.
$$\% \text{ sobre}_a = \frac{(\text{peso de } S_a + \text{material}) - \text{peso de } S_a}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

b.
$$\% \text{ sobre}_b = \frac{(\text{peso de } S_b + \text{material}) - \text{peso de } S_b}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

c.
$$\% \text{ sobre}_c = \frac{(\text{peso de } S_c + \text{material}) - \text{peso de } S_c}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

d) La cantidad de fluidificante de polvo de silicio añadido a la muestra debe sustraerse del peso en la bandeja antes de hacer el cálculo anterior.

5

e) La suma de los porcentajes de todos los tamices (más la bandeja) debe ser igual o muy cercana a 100 %.

Los resultados del análisis del tamaño de partículas de la fracción gruesa y de la fracción gruesa triturada se presentan en la Tabla 10. La Fig. 4 muestra una distribución típica de una fracción gruesa y una fracción o componente de salvado grueso triturado.

10

Determinación de la capacidad de retención de disolvente (SRC)

La capacidad de retención del disolvente (SRC) sirve como ensayo práctico para vigilar la función de los componentes de harina específicos, tales como la cantidad de almidón dañado. El método de ensayo SRC utilizado se adaptó y modificó a partir del método 56-10 de la AACCC según el siguiente procedimiento:

15

Materiales:

- 20 - Tubos de centrifuga de 50 ml + tapones
- 5 % en peso de disolvente de carbonato de sodio
- 25 - Centrifuga (IEC, Centra GP8, rotor 269, 2.130 rpm)

Procedimiento:

1. Pesar tubos de centrifuga de 50 ml + tapones (para tubos especiales, pesar sellos de junta tórica).
- 30 2. Pesar y añadir 5,00 g de una mezcla de salvado/germen a cada tubo (determinar el contenido de humedad de la mezcla).
3. Añadir 25 g de disolvente (alícuotas de disolvente previamente pesadas) a cada tubo.
- 35 4. Permitir que se hidrate durante 20 minutos, agitando cada 5 min (5, 10, 15, 20 minutos)
5. Centrifugar durante 15 minutos a 1000xg.
6. Decantar el sobrenadante y drenar 5 minutos a un ángulo de 45° y 5 minutos a un ángulo de 90°.
- 40 7. Colocar el tapón de nuevo y pesar el aglomerado.
8. Calcule:

$$\text{SRC}\% = \frac{\text{tubo, tapón, tubo de gel, tapón}}{\text{harina}} * \frac{86}{100 - \text{humedad de la harina}} - 1 * 100$$

45

En la Tabla 10 se resumen, para los salvados de prueba: (1) el contenido de humedad, (2) el contenido de proteína, (3) el contenido de ceniza, (4) % de retención de agua, (5) % de retención de carbonato en agua, (6) las condiciones de estabilización, (7) la actividad de lipasa y (8) el tamaño de partículas. En la Tabla 10, SRU significa una muestra de salvado obtenida de un salvado de trigo rojo blando sin atemperar, indicando SRU-9 una fracción gruesa e indicando SRU-10 una fracción gruesa triturada y SWW significa una muestra de salvado obtenida de un trigo blanco blando sin atemperar, siendo cada muestra sin estabilizar, salvo que se indique lo contrario:

50

ES 2 751 097 T3

Tabla 10: Características de ingrediente

Características de salvado	Humedad (% en peso)	Proteína (% en peso)	Ceniza (% en peso)	SRC de agua (%)	SRC de carbonato en agua (%)	SRC de carbonato en agua (%) <149 µm	Actividad de lipasa (µmoles/h/0,1 g)	Tamaño de partículas, % en peso			
								>500 µm	>250 µm	>149 µm	>149 µm
Fracción gruesa de SRU-09 roja blanda	12,1	14,7	5,2	nm	nm	-	3,2	93,2	4,6	0,2	1,2
Fracción gruesa de SRU-09 roja blanda	10,9	15	5,89	285,37	297	-	nm	84,8	15	0,4	0,6
Fracción gruesa de SRU-09 roja blanda	11,7	15,3	5,15	269,27	263	-	2,8	79	16,8	0,4	1,8
Fracción gruesa de SRU-09 roja blanda reciclada	11,8	13,9	5,47	281,07	281	-	3,7	77,8	20,2	0,8	1,2
Fracción gruesa de SRU-09 roja blanda	10,3	14,1	5,11	253,6	246	-	nm	90,2	8,6	0,4	0,6
Fracción gruesa de SRU9 roja blanda, extracción 70 %	11,2	14	5,16	283,6	268	-	nm	89,6	8,8	0,8	0,2
Fracción gruesa de SRU9 roja blanda, extracción 60 %	11,5	12,6	4,44	254,3	241	--	nm	92,4	6,6	1	0,8
Fracción gruesa triturada de SRU-10 roja blanda	8,6	13,5	5,42	nm	187	-	4,8	25,8	31	14,2	28,6
Fracción gruesa triturada de SRU-10 roja blanda	8	16,1	6,15	219,07	187	-	nm	25,2	36,8	15,2	23,2
Fracción gruesa triturada de SRU-10 roja blanda	14,1	15,5	5,35	156,72	211	--	5,1	17,6	41,6	18	22,6
SRU de trituración normal 12-9	9,3	14,6	5,26	180,87	187,9	60	nm	23	33	26	16,8
SRU de trituración media 12-9 (60 % extracción)	9,1	14,6	5,26	97,89	177,2	82	5,5	2	25,2	21,8	51,5
SRU de trituración	9,1	14,6	5,26	99,91	124,81	--	1,15	0,4	25,2	21,8	54,0

media 12-9 (60 % extracción) estabilizada a 120 °C, 5 min.												
SRU de trituration fina 12-9	9,0	14,6	5,26	97,6	113,9	86	nm	0,0	10,8	6,8	87,6	
Salvado molido SWW 12-9 (60 % extracción)	7,2	nm	6,03	199,22	200,95	-	nm	31	30,6	22,4	15,8	
Salvado SWW estabilizado de trituration gruesa de Grain Millers	9	nm	5	137,3	161,2	153	0,44	59,6	29,8	5,8	3,8	
Salvado SWW estabilizado de trituration fina de Grain Millers	9	nm	5	148,8	178,5	149	1,43	0,8	1,6	4,8	92,0	

5 Como se indica en la Tabla 10 y se muestra en la Fig. 4, salvo para el SRU de trituration fina, la trituration de la fracción gruesa o mezcla germen/salvado redujo la cantidad de partículas gruesas de más de 500 micrómetros de más de aproximadamente 75 % a menos de o igual a aproximadamente 31 % y aumentó la cantidad de partículas finas, en el intervalo de tamaño inferior a 500 micrómetros a más de 149 micrómetros, inferior a aproximadamente 21 % a al menos aproximadamente 45 % mientras que la cantidad de partículas inferior a 149 micrómetros no fue superior a 55 %. Dentro de una distribución de tamaño de partículas dada, especialmente para las partículas gruesas, la SRC aumenta a medida que aumenta el contenido de ceniza. Se sabe que el recubrimiento de salvado, aleurona y germen llevan la mayor concentración de ceniza (minerales) que el endosperma. El contenido de ceniza es un índice ampliamente utilizado de la pureza de la harina y proporciona un medio para medir la separación mecánica de los componentes de la semilla durante el proceso de molienda. La ceniza se mide mediante el método AOAC 923.03. Para mezclas de salvado/germen trituradas estabilizadas y sin estabilizar producidas según la presente invención, la SRC de carbonato de sodio en agua no aumentaba con la trituration o estabilización, y la SRC del producto estabilizado de la presente invención se mantuvo por debajo de la del salvado estabilizado comercial. El tamaño de partículas del salvado incidió en el carbonato de sodio retenido en agua de manera que cuanto menores eran las partículas de salvado, menor era la cantidad de disolvente retenida. Se cree que durante la trituration de la red fibrosa y esponjosa del recubrimiento de salvado se rompe y se vuelve menos absorbente de agua/carbonato de sodio. Eliminando las partículas de salvado grandes, de forma que todas las partículas, almidón y salvado eran del mismo tamaño pequeño, por ejemplo, sometiendo a prueba solamente la parte del componente de salvado de < 149 micrómetros se permitió una mejor evaluación del almidón dañado debido a la excesiva trituration y/o, en el caso del salvado estabilizado, almidón gelatinizado mediante tratamiento de estabilización. La SRC de carbonato en agua no aumentó más allá de un límite aceptable, por ejemplo >85 %, hasta que al menos 55 % de las partículas eran de un tamaño inferior a 149 micrómetros. Se cree que esto se traduce en una cantidad crítica de almidón dañado, medido mediante un aumento neto en la retención de disolvente de carbonato en agua de la fracción por debajo de 149 micrómetros de tamaño de partículas, más allá de lo cual se produciría una función perjudicial en el horneado.

Ejemplo 4

Función de horneado de la harina de trigo integral estabilizada preparada con componente de salvado estabilizado

30 En este ejemplo, la funcionalidad de horneado de la harina de trigo integral fabricada con una fracción gruesa, o componente de salvado, triturada estabilizada según la presente invención se comparó con la funcionalidad de horneado de harina de trigo integral preparada con germen y salvado estabilizado triturado comercialmente disponible y una harina de trigo integral sin estabilizar comercialmente disponible mediante el uso de una harina de trigo refinada como control. En la
35 Tabla 11 se indican las harinas de trigo integral con proporciones naturales de salvado y germen triturado estabilizado y sin estabilizar, o componentes de salvado, y endosperma junto con las fórmulas de prueba usadas en el horneado. Las distribuciones de tamaño de partículas de las harinas de trigo integral se midieron utilizando del método Ro-Tap descrito en el Ejemplo 3. La humedad de la harina, ceniza, capacidad de retención de agua, capacidad de retención de carbonato en agua o capacidad de retención de disolvente (SRC) y la actividad de lipasa también se midieron según los métodos descritos en los ejemplos anteriores. El método de horneado de la prueba de galletas utilizado para evaluar la funcionalidad de horneado de las harinas integrales de trigo fue la prueba de horneado de galletas 10-53 de la AACC.

El método, equipo, formulación estándar, método de mezclado, condiciones de horneado y mediciones de geometría de galleta empleadas para evaluar la funcionalidad del horneado fueron:

Método:

5 El método de horneado de la prueba de galletas 10-53 de la AACC se diseñó en Nabisco Biscuit Company para la
 evaluación de la funcionalidad de los ingredientes y la correlación predictiva entre el análisis sensorial y el análisis de la
 textura mecánica (análisis de la textura mecánica por el analizador de texturas TAXT2 para la prueba de flexión de tres
 puntos o la prueba de punción). El ensayo es una mejora sobre el método de horneado de la prueba de galletas azucaradas
 10-52 de la AACC como se confirmó por el Soft Wheat Quality Lab de la USDA (Wooster Ohio). La prueba 10-53 de la
 AACC se adoptó como el método oficial de la American Association of Cereal Chemists tras el ensayo en colaboración con
 el Soft Wheat Quality Committee en 1992. El equipo, la composición de la masa de galletas, el procedimiento de mezclado,
 el procedimiento de horneado, el procedimiento de medición, etc., utilizados en la prueba son:

Equipo

15 El equipo empleado en la prueba de horneado de galletas es:

1. Analizador de humedad, cestas de muestras desechables para la determinación de la humedad de la harina.
2. Termómetro digital (Omega modelo 872A) con termopar.
- 20 3. Mezclador C-100 Hobart con un tazón mezclador de 3 cuartos y paletas.
4. Horno de cocción para la prueba nacional.
- 25 5. Bandeja de cocción de aluminio para galletas de 26 cm de anchura x 30 cm de longitud con barras de
 calibre 2 de 12 mm de anchura x 30 cm de longitud x 7 mm de altura.
6. Cortadora de galletas (60 mm de diámetro interno).
- 30 7. Rodillo amasador con manga (se trazaron líneas con la manga a lo largo de la longitud del pasador).
8. Espátulas, papel absorbente de color marrón, papel de aluminio, vasos de precipitados de plástico
- 35 9. Analizador de texturas TA-XT2 **Prueba opcional para la reología de masas** - dimensiones especiales de
 la cesta anchura 10 cm, longitud 10,5 cm, altura 3,2 cm

Formulación normalizada AACC 10-53 Un único lote para preparar 4 galletas de prueba:

40 Los ingredientes y sus cantidades utilizadas para preparar las galletas de ensayo son:

Etapa-1

Leche en polvo deshidratada desnatada	2,25 g
Sal	2,81 g
Bicarbonato de sodio	2,25 g
Manteca vegetal (Sans Trans 39, Cargill)	90,00 g

Etapa-2

45 Bicarbonato de amonio	1,13 g
Jarabe de maíz con alto contenido de fructosa; 42 % de fructosa, 71 % de sólidos	3,38 g
Agua	49,50 g

Etapa-3

Harina (a una humedad de 13 %)	225,00 g
--------------------------------	----------

50 Mida el contenido de humedad de la harina en cada día de horneado; ajustar los niveles de la harina y el agua para
 compensar desviaciones del contenido de humedad de 13 %:

- a. Registrar el contenido de humedad de la harina e introducirlo como FM en la ecuación para calcular el peso
 real de la harina por lote:

55

$$\text{Peso real de la harina (g)} = \frac{87}{(100 - FM)} * 225 \text{ g}$$

b. Registrar el peso real de la harina por lote e introducirlo como AFW en la ecuación para calcular el peso real del agua añadida por lote;

5

$$\text{Agua añadida real (g)} = 49,5 \text{ g} + 225 - \text{AFW} * 225 \text{ g}$$

Procedimiento de mezclado general:

10 El procedimiento de mezclado empleado para obtener una masa de galleta es:

1. Etapa-1: mezclar los ingredientes secos (leche en polvo desnatada, sal, bicarbonato, azúcar)
- 15 2. Añadir la grasa.
3. Mezcle en un mezclador Hobart 3 minutos a baja velocidad; rasque la paleta y los lados del tazón tras cada minuto de mezclado.
4. Etapa-2: disuelva el bicarbonato amónico en agua; añada el jarabe de maíz con alto contenido de fructosa.
- 20 5. Añadir la solución total de los ingredientes de la etapa 2 a los ingredientes de la etapa 1.
6. Mezclar 1 minuto a baja velocidad, rascando el recipiente y la pala tras cada 30 segundos.
- 25 7. Mezclar 2 minutos a velocidad media, rascando el recipiente y la pala tras cada 30 segundos.
8. Etapa-3: Añadir la harina, combinar en la mezcla líquida 3 veces; mezclar 2 minutos a baja velocidad rascando la paleta y el recipiente cada 30 segundos.

30 Determinación del tiempo de horneado:

El tiempo de horneado se define como el tiempo requerido para producir una pérdida de peso de 13,85 % durante el horneado de la formulación a 400 °F.

35 Medición del tiempo de horneado:

Hornear la formulación a 400 °F durante 10, 11, 12, 13 minutos y para algunas harinas integrales hasta 16 minutos, pesando la bandeja del horno + las galletas después de cada intervalo de minutos. Representar la pérdida de peso en % durante el horneado frente al tiempo de horneado en minutos e interpolar a continuación el tiempo de horneado requerido para lograr una pérdida de peso de 13,58 %.

40

Especificaciones del horneado:

45 Precalentar el horno a 400 °F (202 °C), registrar el peso de la bandeja de galletas fría, y a continuación colocar la bandeja de galletas en el horno durante el tiempo de horneado estándar, registrar el peso de la bandeja caliente.

Procedimiento para la preparación de 4 piezas de masa para el horneado de la prueba de galletas:

50 Partir cuatro piezas de 60 g de masa con mínima deformación y colocarlas sobre una bandeja de galletas. Colocar el rodillo amasador a través de las barras de calibre de la bandeja de galletas permitiendo que el peso del rodillo amasador comprima las piezas de masa sin fuerza compresiva adicional. Recoger el rodillo amasador y colocarlo sobre las barras de calibre en el extremo de la bandeja de galletas, y hacerlo rodar solo una vez en dirección de alejamiento. Cortar las piezas de masa de galletas con una cortadora de 60 mm, y levantar cuidadosamente la masa sobrante con una pequeña espátula. Levantar la cortadora en dirección vertical para evitar la distorsión horizontal.

55 Registrar el peso de las piezas de masa y de la bandeja de galletas.

Hornear la masa de galletas:

60 Colocar las piezas de masa y la bandeja de galletas en el horno en la dirección del laminado. Hornear las galletas a 400 °F durante el tiempo de horneado predeterminado. Pesar la bandeja de galletas con las galletas colocadas sobre ella inmediatamente después de la retirada del horno. Retirar con cuidado las galletas de la bandeja con una espátula plana y colocar la parte plana sobre un papel marrón en la misma dirección en la que fueron envueltas y horneadas.

Mediciones de geometría:

Las mediciones de la geometría se realizan cuando se enfrían las galletas, al menos 30 minutos, después del horneado. La anchura, la longitud y la altura de la pila se miden de la siguiente manera:

A. Anchura-diámetro perpendicular a la dirección de la bandeja: Colocar 4 galletas en una fila con las líneas de la manga del rodillo amasador paralelas a la longitud del metro. Registrar la medición en centímetros.

B. Longitud-diámetro paralelo a la bandeja: Girar las galletas 90° de tal manera que las líneas de la manga del rodillo amasador queden perpendiculares a la longitud del metro. Registrar la medición en centímetros.

C. Altura de la pila: Apilar las 4 galletas y colocar la pila en el lado entre las guías planas. Registrar la medición en centímetros. Alterar ligeramente el orden de las galletas y repetir la medición.

En la Tabla 12, para cada harina, componente de salvado o mezcla de salvado/germen utilizada, se muestran el contenido de ceniza, la capacidad de retención de agua, la capacidad de retención de carbonato en agua, o la capacidad de retención del disolvente (SRC), la actividad de lipasa, la anchura de galletas, el tiempo de horneado de las galletas y la distribución de tamaño de partículas de la harina. Las fórmulas de prueba de horneado de harina de trigo integral se muestran en la Tabla 11. Las condiciones de estabilización para la harina estabilizada de la presente invención (la muestra con 29,6 % en peso de salvado estabilizado de trituration media SRU y 70,4 % en peso de endosperma de la harina) son 120 °C al 9,9 % en peso de humedad durante 5 minutos. La harina Climax, la harina Graham y la harina integral ultrafina ConAgra fueron todas harinas comerciales utilizadas "tal cual". Las primeras cinco harinas indicadas (SRU 3-05, HRU 7-26, SWW 7-26, SRU 8-26 y SWW 8-26) y la harina de trigo blanco blando, el salvado triturado SWW 12-9 se molieron todos en un proceso de planta en continuo. Para las harinas reconstituidas, se recombino el salvado estabilizado comercial Grain Millers con el endosperma refinado blanco en la misma relación usada para las harinas de trituration media y fina, SRU (29,6 % en peso de salvado y 70,4 % en peso de endosperma). En las Tablas 11 y 12, SRU significa una muestra obtenida a partir de un salvado de trigo rojo blando sin atemperar, SWW significa una muestra obtenida a partir de un trigo blanco blando sin atemperar, HRU significa una muestra obtenida a partir de un trigo rojo duro sin atemperar y GM significa Grain Millers, siendo cada muestra sin estabilizar, salvo que se indique lo contrario:

Tabla 11: Fórmulas de prueba de horneado de harina de trigo integral, % en peso

Ingrediente	Muestra												
	Control Climax	SWW no estab.	SRU no estab.	SRU estab.	GM, triturado estabilizado comercial	GM, grueso estabilizado comercial	Trigo integral Con Agra	SRU 3-05	HRU 7-26	SWW 7-26	SRU 8-26	SWW 8-26	
ETAPA 1													
Leche deshidratada sin grasa	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
sal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
bicarbonato sódico	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
azúcar granulado fino	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168
san trans 39	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160
ETAPA 2													
bicarbonato amónico	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Jarabe de maíz con alto contenido de fructosa	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
agua	88,09	96,24	96,86	100,9	100,13	97,69	105,54	95,31	90,79	93,58	92,19	92,55	
	Humedades de la harina												
ETAPA 3													
Climax	12,98	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SWW sin estabilizar	11,17		400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SRU sin	11,03		-	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ES 2 751 097 T3

estabilizar													
SRU estabilizada	10,11		-	-	400	-	-	-	-	-	-	-	-
Grain Millers, triturado estabilizado comercial	10,28					400	-	-	-	-	-	-	-
Grain Millers, grueso estabilizado comercial	10,84		-	-	-	-	400	-	-	-	-	-	-
Trigo integral Con Agra	9,01		-	-	-	-		400	-	-	-	-	-
SRU 3-05	11,38		-	-	-	-	-		400	-	-	-	-
HRU 7-26	12,39		-	-	-	-	-	-		400	-	-	-
SWW 7-26	11,77		-	-	-	-	-	-	-		400	-	-
SRU 8-26	12,08		-	-	-	-	-	-	-	-		400	-
SWW 8-26	12		-	-	-	-	-	-	-	-	-		400
Peso real de la harina		399,91	391,76	391,1	387,1	387,87	390,31	382,46	392,69	397,21	394,42	395,81	395,45

Tabla 12: Características de la harina de trigo integral y funcionalidad de horneado

Harina de trigo integral reconstituida	Ceniza	SRC de agua	SRC de carbonato en agua	Actividad de lipasa (µmoles/h/0,1 g)	Anchura de galleta, 4 (cm)	Tiempo de horneado (min)	Tamaño de partículas, % en peso				
							>500	>250	>149	<149	suma >250 micrómetros
SRU 3-05 (27,2 % salvado-germen: 72,8 % de endosperma)	1,67	66,5	77,6	nm	33,6	nm	5,2	26,6	14,8	52,6	31,8
HRU7-26	1,54	68	78,7	nm	33,8	13	8	28,2	19,6	44,8	36,2
SWW 7-26	1,47	65,3	74,5	nm	34,6	12	8,2	36	18,4	34,2	44,2
SRU 8-26	1,52	63,85	78,27	2	33,8	13	2,8	35,8	23,2	38,6	38,6
SWW 8-26	1,53	62,57	76,58	nm	34,5	13	1,8	33,6	17,4	45,6	35,4
29,6 % salvado de trituration fina SRU + 70,4 % harina de endosperma	1,58	67,3	81,7	nm	29,7	16	1,4	35	54	8	36,4
29,6 % salvado de trituration media SRU + 70,4 % harina de endosperma	1,58	67,3	81,7	2,5	30,4	13	1,6	26,4	35,6	35,8	28
29,6 % salvado estabilizado de trituration media SRU + 70,4 % harina de endosperma	1,58	62	80	0,9	33,7	13	1,6	26,4	35,6	35,8	28
Salvado triturado SWW 12-9 (29,6 % salvado + 70,4 % harina de endosperma)	1,66	64	80	2,5	33,7	12	2	25,8	29,4	42,4	27,8
Salvado SWW estabilizado de trituration gruesa	1,67	71	88	1,2	34,9	13	28	21	14	39	49

Grain Millers (29,6 % salvado + 70,4 % harina de endosperma)												
Salvado SWW estabilizado de trituration fina Grain Millers (29,6 % salvado + 70,4 % harina de endosperma)	1,67	79	102	1,1	28,8	16	0,6	12,2	45,2	38,6	12,8	
Harina ultrafina Con Agra	1,48	75,2	89,5	2,2	27,6	16,5	0	1	5	95	1	
Harina Climax	0,51	64,9	71,32	0,74	34,7	13	0,4	1	20,56	79,4	1,4	
Harina Graham	1,56	64,9	71,3	1,9	34,4	11	25	27,6	20,8	27,6	52,6	

La harina de trigo integral preparada con componente de salvado o salvado/germen de trituration media estabilizada es la harina que demuestra las cualidades de horneado más similares a la harina de trigo refinada blanca estándar. Para las cuatro harinas de trigo integrales con menos de 30 % de peso de partícula mayor que o igual a 250 micrómetros, la harina de trigo integral estabilizada de trituration media estabilizada a 20 °C durante 5 minutos demuestra características de horneado inesperadamente superiores con una anchura de galleta y un tiempo de horneado más parecidos a los del control de harina refinada blanca, en comparación con las de: (1) la harina de trigo integral preparada con salvado/germen estabilizado comercial, (2) harina de trigo integral de trituration fina sin estabilizar comercial, y (3) harina de trigo integral fabricada con salvado/germen sin estabilizar.

En la Fig. 5, se representa la retención de carbonato en agua de todas las harinas como una función del % en peso de partículas de más de 250 micrómetros. En el eje-y de la izquierda se muestra la capacidad de retención de carbonato en agua. En el eje-y de la derecha se muestra el diámetro relativo de la galleta. Como se muestra en la Fig. 5 y la Tabla 12, la harina de trigo integral fabricada con un componente de salvado o mezcla de salvado/germen según la presente invención, demuestra una reducción de la capacidad de retención de carbonato en agua de 81,7 % hasta 80 %, un aumento del diámetro de la galleta de 30,4 cm hasta 33,7 cm, y mantuvo un tiempo de horneado similar al de la harina refinada blanca de control de 13 minutos a 400 °F.

Ejemplo 5

Efecto de la estabilización en la formación de ácido graso libre

En este ejemplo se determina la cantidad de ácidos grasos libres formados, en condiciones de almacenamiento acelerado, en harina de trigo integral fabricada con componente de salvado triturado, estabilizada según la presente invención. Se prepararon las siguientes cuatro harinas de trigo con componente de salvado triturado preparado en la producción de harina de trigo integral: (1) Harina sin estabilizar roja blanda, (2) harina sin estabilizar blanca blanda, (3) harina estabilizada roja blanda, y (4) harina estabilizada blanca blanda. Se prepararon las siguientes dos harinas con subproducto de salvado triturado de molienda de harina refinada blanca: (5) Harina integral, sin estabilizar, y (6) harina integral, estabilizada. Los resultados se compararon con la cantidad de ácidos grasos libres formados en harina de trigo integral comercial sin estabilizar: (7) ConAgra ultrafina. Se prepararon harinas integrales con una proporción natural de componente de salvado y endosperma obtenidos de la molienda de harina. Idealmente, la estabilización del componente de salvado tendría lugar inmediatamente después de la molienda para evitar la acción de la lipasa. Sin embargo, los componentes de salvado de harina para este estudio fueron de aproximadamente una a dos semanas anteriores al momento de poder llevar a cabo la estabilización. El componente de salvado (indicado como BG) y endosperma (indicado como Endo) se mezclaron en las relaciones mostradas en la Tabla 14. El contenido de ceniza de harina integral se utilizó para confirmar la composición. Los componentes de salvado, que contienen salvado y germen se estabilizaron a aproximadamente 120 °C durante aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 11 % de humedad. Las actividades de lipasa y las distribuciones de tamaño de partículas se midieron como en el Ejemplo 1 y el Ejemplo 3, respectivamente, y se muestran en la Tabla 14. Las harinas se almacenaron en frascos de vidrio sellados durante 29 días en condiciones de almacenamiento acelerado de 95 °F.

El contenido de ácidos grasos libres de las harinas se adaptó a partir del método expuesto en "Jong, C.; Badings, H. T.; *Journal of High Resolution Chromatography*; **1990**; Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cheese Procedures for Extraction, Clean up, and Capillary Gas Chromatography Analysis." Los extractos lipídicos, que contenían ácidos grasos libres, se obtuvieron de los alimentos mediante extracción con disolventes orgánicos acidificados. Los extractos lipídicos anhidros se hacen pasar a través de un cartucho SPE de intercambio aniónico débil para aislar los ácidos grasos libres del material extraído conjuntamente, en particular los glicéridos neutros. El procedimiento es el siguiente:

ES 2 751 097 T3

Aparato

El aparato empleado en la determinación de los ácidos grasos libres es:

- 5 a. Cromatógrafo de gases (GC) ajustado para inyección de columna capilar en columnas de 0,53 mm de diámetro interno con control electrónico de presión (EPC) y detector de ionización de llama (FID), [ejemplo: HP5890 serie II],
- b. Automuestreador compatible con el CG, [ejemplo: HP7673],
- 10 c. Sistema de *software* capaz de recoger datos de cromatográfica, calcular estadísticas y tabular resultados,
- d. Balanza analítica con una resolución de 0,0001 g, una capacidad de 150 g
- 15 e. Centrífuga con capacidad de 3000 rpm (2050 rcf), con control de temperatura, (opcional),
- f. Polytron capaz de homogeneizar muestras a 25.000 rpm [ejemplo: Brinkmann Instruments, Polytron Kinematica AG modelo PT 1300 D],
- 20 g. Mezclador de vórtice,
- h. Dispensadores de disolvente con componentes plásticos inertes [ejemplo: Brinkmann - dos 1-5 ml de capacidad n.º de cat.2222010-1 y uno 5-25 ml de capacidad n.º de cat.2222030-6], y
- 25 l. Tenaza para viales automuestreadores.

Suministros

Los suministros empleados en la determinación de los ácidos grasos libres son:

- 30 1. Columna: StabilwaxDA 0,25 u, 0,53 mm x 15 m [Restek Corp. n.º 11022],
2. Cartuchos de SPE: Bond Elut NH2, 3 cc, 500 mg, con fritas de acero inoxidable [Parte variante n.º 1212-4038],
- 35 3. Tubos de prueba para centrífuga de vidrio con tapas de rosca recubiertas con TEFLON, tamaño: 16 X 125 mm,
4. Tubos de centrífuga de vidrio Corex con tapones de rosca recubiertos con TEFLON, 45 ml [ejemplo: COREX II n.º 8422-A],
- 40 5. Papel de filtro Whatman n.º 1, 125 mm de diámetro,
6. Embudo de filtrado de marca Pyrex, tallo corto,
7. Tubos de cultivo desechables, vidrio de borosilicato 16 x 150 mm [ejemplo; VWR Cat n.º 47729-580],
- 45 8. Viales de vidrio con tapones de rosca recubiertos con TEFLON, 4 ml. [ejemplo: Kimble Cat n.º 60940A 4],
9. Viales automuestreadores, vidrio de borosilicato, parte superior fruncida con tapones recubiertos con TEFLON,
- 50 10. Frascos de borosilicato ámbar con tapón de rosca recubierto con TEFLON, 100 ml,
11. Frasco de borosilicato transparente con tapón de rosca recubierto con TEFLON, 250 ml,
12. Probetas: 250 ml, 100 ml,
- 55 13. Matraces volumétricos: 250 ml, 100 ml,
14. Pipetas volumétricas de vidrio, clase A 5, 2, 1 ml y graduadas 10, 5 ml,
- 60 15. Pipetas Pasteur desechables: 5 3/4 y 9 pulgadas, y
16. Microespátula, espátula y tubos de transferencia de muestra de polipropileno.

Reactivos/soluciones

- 65 Los reactivos, patrones y soluciones empleados en la determinación de los ácidos grasos libres son:

Reactivos y patrones

Los reactivos y patrones empleados en la determinación de los ácidos grasos libres son:

- 5 1. Etanol - 200 de prueba, anhidro, 99,5 % +, almacenado en vidrio ámbar [Aldrich n.º 45.983-6 o equivalente],
2. Hexanos, grado GC [B&J n.º 216-4 o equivalente],
- 10 3. iso-propanol, grado GC [B&J n.º 323-4 o equivalente],
4. Metil-terc-butiléter (MTBE) - grado GC [B&J n.º 242-4 o equivalente],
- 15 5. Cloruro de metileno, grado GC [B&J n.º 299-4 o equivalente],
6. Ácido acético - pureza a monitorizar para el nivel de ácido propiónico [Aldrich n.º 32.009-9 o equivalente],
7. Ácido sulfúrico - reactivo ACS, 95,0-98,5 % [reactivo de Fisher ACS n.º A800-500 o equivalente],
- 20 8. Agua Tipo 1 [Fisher HPLC n.º W5-4 o equivalente],
9. Tierra de diatomeas [LECO pieza n.º 502-327 o equivalente], y
- 25 10. Patrones de > 99,0 % de pureza 3:0; 4:0; 6:0; 8:0; 9:0; 10:0; 11:0; 12:0; 13:0; 14:0; 16:0; 18:0 [ejemplos: 3:0 Aldrich n.º 24.035-4; 4:0 Aldrich n.º B 10.350-0; 6:0 Aldrich n.º 15.374-5; 8:0 Aldrich n.º 0-390-7; 9:0 Sigma n.º -5502; 10:0 Aldrich n.º 15.376-1; 11:0 Sigma n.º U-5503; 12:0 Aldrich n.º 15.378-8; 13:0 Sigma n.º T-0502; 14:0 Aldrich n.º 15-379-6; 16:0 Nu-Check- Prep, Inc.>99 %; 18:0 Nu-Check- Prep, Inc.>99 %].

Soluciones a preparar

Las soluciones que deben prepararse para la determinación de los ácidos grasos libres son:

1. Sulfúrico 2,5 M: Diluir 7 ml de ácido concentrado con agua de tipo 1 a 50 ml volumétricamente.
- 35 2. 1:1 (v/v) MTBE: Hexanos
3. 2:1 (v/v) cloruro de metileno: 2-propanol
4. ácido acético 2 % en MTBE: Diluir 5 ml de ácido concentrado con MBTE1 a 250 ml volumétricamente.
- 40 5. 1:1 (v/v) Hexanos: 2-Propanol, disolvente de aclarado para jeringa entre ciclos
6. Patrones (Preparación de patrones ver Apéndice 13.1)
- 45 a. Patrón interno: 11:0; Secundarios: 9:0 y 13:0
- b. Matriz adicionada (MS) en solución de trabajo estándar en etanol: MS a ~ 50 µg/ml. Este nivel puede ser apropiado para las determinaciones de nivel bajo a medio. Generalmente, los niveles de FFA varían mucho en una matriz determinada. Por consiguiente, puede ser necesaria una solución de adición de cantidades variables por FFA
- 50 individual por matriz.
- c. Patrones de calibración en hexanos establecer intervalo lineal: Intervalo de una columna 1 µ- 200 g/g (ppm), patrones de ácidos grasos libres: 3:0, 4:0, 6:0, 8:0, 9:0, patrón secundario, 10:0, 11:0 patrón interno, 12:0, 13:0 patrón secundario, 14:0, 16:0 y 18:0. Comentario: Los cálculos de 18:1 y 18:2 se basan en un factor de respuesta 18:0.
- 55 d. Después, se preparan patrones de calibración en ácido acético 2 % en MTBE, la solución eluyente final: Patrón de calibración n.º 3 a~ 50 µg/ml preparado en ácido acético 2 %/MTBE actualmente utilizado para crear horquillas de muestra.

Comprobar las muestras, blancos, duplicados, y matrices adicionadas

- 60 Antes de usar un nuevo lote de cartuchos de SPE, debe determinarse la fracción de elución apropiada con un patrón de nivel medio. Se prepara un blanco con cada lote de muestras. Dentro del lote cada estudio contendrá un duplicado. Se realizará una matriz adicionada para todas las matrices nuevas y en casos en que la homogeneidad constituya un problema. Se debe preparar una verificación de calibración inicial (ICV para verificar la correcta preparación de los
- 65 patrones de calibración. Actualmente, no existen muestras de comprobación apropiadas para este análisis.

Preparación de la muestra y almacenamiento

Las condiciones de preparación y almacenamiento de las muestras empleadas en la determinación de los ácidos grasos libres son:

- 5
- a. Almacenamiento inicial de muestra: congelada, refrigerada, o a temperatura ambiente según lo especificado para cada muestra individual.
- 10
- b. Las muestras con lipasas activas pueden requerir un manejo especial, tal como la inactivación enzimática.
- c. Muestreo: temperatura ambiente, bien mezclado - homogéneo
- d. Extractos de muestra: soluciones almacenadas en viales recubiertos con TEFLON tapados herméticamente con tape de rosca, ya sea en una campana bien ventilada o un refrigerador a prueba de explosiones.
- 15
- e. Aislados de muestra: El eluyente final es una mezcla de ácido y disolvente orgánico. Estos aislados deben almacenarse en un área de almacenamiento para sustancias inflamables aprobada lejos de toda base.

Limpieza de muestra

20

Procedimiento para la extracción de muestra: Matriz sólida y líquida

En tubos de ensayo para centrífuga de vidrio de 45 ml añadir y mezclar en el siguiente orden:

- 25
1. Muestra, 1,0 - 1,05 g de peso registrado a $\pm 0,0001$ g,
2. Solución patrón interno de trabajo, 1,0 ml, mediante pipeta,
- 30
3. Etanol, 1,0 ml, mediante pipeta,
4. H_2SO_4 2,5 M, 0,3 ml, mediante pipeta,
5. Agitar en vórtice para formar una mezcla homogénea,
- 35
6. Añadir: Tierra de diatomeas, $4,5 \pm 0,1$ g (en los casos de muestras de humedad muy baja (ejemplo - harina) la tierra de diatomeas absorbe demasiada cantidad de los disolventes.
7. Agitar en vórtice vigorosamente,
- 40
8. Dejar equilibrar al menos 10 minutos (el tiempo mínimo para la interacción de la muestra y la tierra de diatomeas es de 5 minutos. La tierra de diatomeas absorbe agua. La presencia de humedad de la muestra puede dar lugar a resultados no reproducibles. 3:0 y 4:0 de fácil reparto en la capa de agua. Como valor mínimo se ha establecido diez minutos. Esto proporciona un margen de seguridad para permitir el fin de la interacción), y
- 45
9. Añadir 1:1 (v/v) MTBE: Hexanos, 15,0 ml por dispensador de disolvente.

Proceso de extracción

El aparato empleado para la extracción en la determinación de los ácidos grasos libres es:

- 50
- El ajuste para Polytron es de 24.000 rpm, con un tiempo de 25-45 segundos dependiendo de la solidez de la matriz. Como precaución, deben usarse guantes. Aclarar la punta del Polytron con agua caliente, secar con una toalla, seguido de un aclarado con 2-propanol y secar de nuevo la punta con toalla. Se pueden utilizar Kimwipes o toallitas de papel desechables. La sonda de Polytron puede requerir aclarados adicionales. Algunos problemas potenciales de los remanentes incluyen alto contenido en grasa, alto contenido de FFA y lipasas activas. El enjuague final antes de las muestras debe ser con 2-propanol. Después, se centrifuga la muestra en vórtice, se filtra el contenido completo del tubo de centrífuga a través de un papel Whatman del n.º1. Recoger el filtrado en tubos de ensayo de vidrio con tapón de rosca de 16 x 125 mm. Una opción alternativa consiste en maximizar el volumen del sobrenadante, centrifugar a 3000 rpm durante 30 segundos. Si se elige esta opción, deben tenerse en cuenta las precauciones con respecto a la volatilidad del disolvente. Transferir el sobrenadante a tubos de ensayo de vidrio con tapón de rosca de 16x125 mm.
- 55
- 60

Aislamiento de ácido graso libre

- 65
- Acondicionar el cartucho de SPE con 3 ml de hexanos. En este caso, es apropiado un dispensador de disolvente. En esta etapa se puede añadir disolvente adicional sin ningún efecto negativo, especialmente si los extractos de muestra no están listos para su transferencia en este momento. Los hexanos adicionales evitarán que el cartucho se seque. Llenar el

barril del cartucho de SPE con el extracto de muestra. Bastará utilizar una pipeta Pasteur en esta transferencia. El volumen de extracto cargado en el SPE es de aproximadamente 3 ml. Permitir el drenado completo sin secado. Lavar dos veces con 2 ml de cloruro de metileno: Solución de 2-propanol para eliminar los glicéridos neutros. Se recomienda un dispensador de disolvente. Dejar drenar por completo. Pipeta 2,5 ml ácido acético 2 % - MTBE. Desechar el eluato.

5 Transferir el cartucho de SPE a viales de recolección de muestras. Pipetear una segunda cantidad de 2,5 ml de ácido acético 2 % - MTBE. Recoger el eluato que contiene FFA en un vial de 4 ml directamente. Mezclar vigorosamente.

Los volúmenes de elución para ácidos grasos libres deben verificarse para cada nuevo lote de cartuchos de SPE. Aplicar un ml de un patrón de trabajo de nivel medio, Cal n.º 3, en hexanos a un cartucho acondicionado, eluir a continuación del siguiente modo como se muestra en la Tabla 13:

10

Tabla 13: Elución

Fracción 1	2X2 ml	Cloruro de metileno: 2-propanol	Desechar
Fracción 2	1,5 ml	Acético 2 % en MTBE	Desechar
Fracción 3	1,0 ml	Acético 2 % en MTBE	Recoger
Fracción 4	1,5 ml	Acético 2 % en MTBE	Recoger
Fracción 5	1,0 ml	Acético 2 % en MTBE	Recoger
Fracción 6	1,0 ml	Acético 2 % en MTBE	Recoger

15 Analizar las fracciones 3 a 6 para determinar el volumen óptimo de solución necesaria para eluir todos los ácidos grasos libres. Una vez determinada la fracción apropiada, se puede usar un proceso de tamizado para validar el siguiente nuevo lote de cartuchos de SPE. Un extracto del blanco puede dividirse entre cartuchos de lote viejos y nuevos. Si los análisis por CG de los aislados guardan correlación, no se requiere ninguna otra acción. De cualquier otra manera, la fracción correcta se debe optimizar siguiendo las etapas antes mencionadas.

20

Configuración de instrumentos

La configuración de instrumentos empleada en la determinación de los ácidos grasos libres es:

- 25 1. Instrumento: GC capaz de inyección en columna, columna de 0,53 mm, EPC, automuestreador
2. Columna: StabilwaxDA: 0,25 micrómetros, 0,53 mm x 15 m
- 30 3. Gas portador: Hidrógeno de flujo constante al 10,0 ml/min o conjunto EPC a 2,0 psi a 60 °C
4. Programa de temperatura: 60 °C, tiempo de retención 0,5 min, a 50%/min hasta 100 °C, a 10%/min hasta 250 °C, tiempo de retención 1 min
- 35 5. Temp. de inyección: Pista de horno de modo diferencial 3 °C
6. Volumen de inyección: 1 ul
7. Detector: Detector de ionización por llama a 260 °C, intervalo 0

Análisis

Análisis inicial

45 Primero, un análisis de blanco del instrumento, ácido acético 2 % en MTBE, debe demostrar un sistema libre de contaminante. En segundo lugar, una solución estándar, 1 ppm, debe mostrar una detección aceptable para cada compuesto. En tercer lugar, se debe preparar una calibración de cinco puntos, de 5 a 200 ppm, para establecer el intervalo de funcionamiento aceptable para la cuantificación.

50 El cálculo se puede basar en el factor de respuesta promedio o regresión lineal. Si se elige el cálculo del factor de respuesta, entonces la desviación estándar relativa (RSD) debe estar dentro del 20 % del promedio para cada compuesto. Alternativamente, con el método del coeficiente de regresión lineal (R^2), se requiere un valor de 0,999 para cada compuesto de interés. Esta calibración debe verificarse con un ICV preparado a partir de una fuente secundaria de patrones. Todos los compuestos del ICV deben estar comprendidos en un intervalo de ± 5 % de la calibración actual.

55 Análisis continuo

En cada inicio, se analiza un blanco del instrumento y un patrón de nivel medio antes de las muestras. El blanco debe demostrar que no hay presencia de contaminante. El patrón de nivel medio no debe diferir más de 10 % de los valores esperados con respecto a la calibración actual. Cada quince muestras debe crearse una horquilla con un

patrón de nivel medio. Si un patrón de nivel medio supera el límite de 10 %, debe adoptarse una acción correctiva y deben volver a analizarse todas las muestras previas a ese patrón. Puede utilizarse una forma de pico 18:0 para monitorizar el estado de la entrada. La formación de residuos de degradación en forma de pico del ácido esteárico es indicativa de acumulación en el extremo delantero de la columna. La pérdida real de ácido esteárico es indicativa de escape o contaminación del puerto de inyección.

Evaluación, cálculo y expresión de resultados

La evaluación, el cálculo y la expresión de los resultados para la determinación de los ácidos grasos libres son:

Evaluación y cálculo

Se evalúan todos los cromatogramas en cuanto a la forma de pico. Una forma pico deficiente representa un problema con la configuración de funcionamiento. Este problema debe solucionarse antes del análisis posterior. Los patrones se evalúan adicionalmente en cuanto a tiempos de retención. La ventana de tiempo de retención aceptable para los FFA individuales es de ± 0,02 minutos de los patrones de calibración actuales. Además, los niveles de FFA de muestra deben estar dentro de los límites de calibración establecidos. Si cualquier componente excede la cantidad de calibración superior, esa muestra debe diluirse adecuadamente y analizarse nuevamente.

Este método se basa en la cuantificación del patrón interno. La curva de calibración de cinco puntos va de 5 a 200 ppm. Se promedian los cinco factores de respuesta. A continuación, se usa el factor de respuesta promedio para calcular los FFA desconocidos. Cada compuesto tiene su propio factor de respuesta.

Cálculo del factor de respuesta:

El factor de respuesta puede calcularse como:

$$\text{Factor de respuesta (RF): } RF_X = (A_X C_{is}) / (A_{is} C_X)$$

$$\text{Factor de respuesta promedio (RF}_{prom}): RF_{Xprom} = (RF_{X1} + RF_{X2} + RF_{X3} + RF_{X4} + RF_{X5}) / 5$$

donde: RF_X = Factor de respuesta del compuesto X; A_X = Área máxima del compuesto X; C_{is} = Total (µg) de patrón interno añadido; A_{is} = Área máxima del patrón interno; C_X = Total (µg) de compuesto X; y RF_{Xprom} = factor de respuesta promedio para el compuesto X obtenido a partir de una calibración de cinco puntos.

Cálculo de la concentración desconocida

La concentración de muestra desconocida puede calcularse como:

$$\text{Concentración de muestra desconocida (µg/g)} = (A_X * C_{is}) / (A_{is} * RF_{Xprom} * W)$$

donde: W = peso de la muestra en (g).

Expresión de resultados

Los resultados se indican en ppm, µg/g o mg/kg, redondeados al número entero más cercano. Antes de la generación de datos de la muestra, el laboratorio debe establecer los límites de cuantificación prácticos y de detección. Los resultados por debajo del punto de calibración más bajo se indican como valores inferiores a ese valor, <5 ppm.

Los FFA retenidos en una fase de amina se eluyen con ácido acético al 2 % en metil-terc-butiléter (MTBE). El extracto se sometió a cromatografía en una columna capilar, Stabilwax. Los compuestos se detectan mediante ionización de llama (FID). Las cantidades de ácidos grasos pares, de 4:0 a 18:0, incluido 3:0, se determinan mediante cuantificación de patrones internos, 11:0. Los cálculos de 18:1 y 18:2 se basan en el patrón de 18:0. La cantidad de tetradecanoico (14:0), hexadecanoico (16:0), octadecanoico (18:0), octadecenoico (18:1) y octadecadienoico (18:2) hallada en las harinas se suman para obtener el contenido total de ácidos grasos libres de la harina mostrado en la Tabla 14. Las condiciones de estabilización y las distribuciones de tamaño de partículas para las harinas se muestran también en la Tabla 14:

Tabla 14: Efecto de estabilización de la formación de ácido graso libre total en las harinas de trigo integrales

Harina integral	Condiciones de estabilización			Distribución de tamaño de partículas, % en peso				% en peso BG	% en peso Endo	% en peso Ceniza	(µmoles/h/0,1 g) lipasa	Total de ácido graso libre, ppm						
	Temp. °C	Tiempo, min.	Humedad % en peso	>500 µm	>250 µm	>149 µm	<149 µm					Tiempo, días						
												0	9	15	21	29		

Harina sin estabilizar roja blanda 7-26	-	-	-	25,8	31	14,2	28,6	17	83	1,3	1,37	1127	1592	1702	2005	2218
Harina sin estabilizar blanca blanda 7-26	-	-	-	26,6	37,4	17,8	26,8	17	83	1,28	1,54	932	1434	1582	1751	2005
Harina estabilizada roja blanda 7-26	120	5	11	25,8	31	14,2	28,6	17	83	1,2	0,67	862	1062	1244	1276	1414
Harina estabilizada blanca blanda 7-26	120	5	11	26,6	37,4	17,8	26,8	17	83	1,33	0,79	725	918	1054	1078	1235
Harina integral, sin estabilizar	-	-	-	25	35	20	20	17	83	1,21	1,61	1561	2551	2704	2998	3354
Harina integral, estabilizada	120	5	11	25	35	20	20	17	83	1,2	0,83	1394	1914	2243	2403	2713
Harina integral comercial	-	-	-	0	1	2	97	n.d.	n.d.	1,29	1,86	2221	2879	3088	3379	3715

La Fig. 6 muestra una representación de los ácidos grasos libres totales en la harinas integral elaborada con componente de salvado triturado en función de la duración del tiempo del almacenamiento acelerado. Como se muestra en la Tabla 14 y en la Fig. 6, la estabilización redujo la cantidad de ácidos grasos libres en el componente de salvado de 2218 ppm a 1414 ppm para la harina de trigo rojo blando y de 2005 ppm a 1235 ppm para la harina de trigo blanco blando a los 29 días de almacenamiento acelerado. Se cree que esta reducción en los ácidos grasos libres, un sustrato crítico de la enzima lipoxigenasa, reduce sustancialmente la cantidad de grasa oxidada en la harina por debajo del umbral de aroma/sabor de aproximadamente 3000 ppm (o 10 % del contenido lipídico total) y, por lo tanto, prolonga sustancialmente el período de validez. La Fig. 7 muestra una representación de los ácidos grasos libres totales en las harinas integrales elaboradas con subproducto de salvado triturado procedente de la producción de molienda de harina blanca refinada en función de la duración del tiempo en almacenamiento acelerado. Como se muestra en la Tabla 14 y en la Fig. 7, la estabilización redujo la cantidad de ácidos grasos libres en la harina de 3354 ppm a 2713 ppm para la harina de trigo integral a los 29 días de almacenamiento acelerado, lo que es sustancialmente inferior a los 3715 ppm de los ácidos grasos libres totales en la harina de trigo integral comercial.

Ejemplo 6

Efecto de la estabilización en la capacidad antioxidante total del componente de salvado

En este ejemplo, un componente de salvado de trigo triturado estabilizado, de la molienda de harina integral de trigo rojo blando, se prepara según la presente invención y se analiza para determinar la capacidad antioxidante total en comparación con el salvado triturado sin estabilizar y un salvado estabilizado comercial líder, salvado de Grain Millers. El método usado para determinar la capacidad antioxidante total es la medida de la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC).

La prueba de ORAC se basa en reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno en las cuales un antioxidante y un sustrato compiten por los radicales peroxilo generados térmicamente mediante la descomposición de compuestos azo. El método utilizado es el siguiente:

Protocolo de extracción para salvado de trigo

El protocolo de extracción para el salvado de trigo empleado en la determinación de la capacidad antioxidante total es:

- Se pesaron muestras de salvado de trigo (1 %) en tubos de centrífuga de 50 ml y a continuación se añadieron 15 ml de éter de petróleo a cada tubo.
- Los tubos se centrifugaron en vórtice durante 30 segundos y a continuación se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos.
- El sobrenadante se recogió y el gránulo se volvió a extraer dos veces con éter de petróleo.

4. Los sobrenadantes agrupados se secaron en un Thermo Savant SPD 1010 SpeedVac y los residuos se reconstituyeron en 1 ml de acetona (extracto lipófilo).

5 5. Al resto del gránulo, se añadieron 15 ml de NaOH 2M (con rociado de N₂).

6. Tras lavar con N₂ y taparlos, los tubos se agitaron a temperatura ambiente durante 1 hora.

10 7. Después de la centrifugación a 8000 rpm durante 10 minutos, los sobrenadantes se neutralizaron con HCl y se llevaron a 100 ml de volumen con diH₂O (extracto hidrófilo).

Procedimiento ORAC

15 Los reactivos y los disolventes, la preparación del reactivo, el procedimiento de microplacas, el análisis de datos y los cálculos utilizados en el procedimiento ORAC empleado en la determinación de la capacidad antioxidante total son:

Reactivos y disolventes

20 Los reactivos y los disolventes usados en el procedimiento ORAC son:

1. Trolox, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Aldrich Chemicals, artículo 238813- 5G, n. °CAS 53188-07-1, F.W. 250,29.

25 2. Fluoresceína sal disódica, Aldrich Chemicals, artículo 166308-100G, n. °CAS 518-47-8, F.W. 376,28.

3. AAPH, hidroxidocloruro de 2,2'-azobis(2-amidinopropano), Wako Chemicals, artículo 992-11062 n.° RN 2997-92-4. F. W. 271.193.

30 4. Fosfato de potasio dibásico, Fisher Chemical, n. °CAS 7758-11-4, F.W. 174,18.

5. Fosfato de sodio monobásico, Sigma Aldrich, n. °CAS 10049-21-5, F.W. 138,00.

6. β-Ciclodextrina metilada al azar, grado Pharm, n.° de cat. TRMBP, Cyclodextrin Technologies.

35 7. Acetona, calidad HPLC, Fisher Chemicals.

8. diH₂O

Preparación de reactivos

40 Los métodos para la preparación de los reactivos ORAC son:

Tampón fosfato

45 El tampón de fosfato se obtiene preparando las soluciones madre de tampón fosfato y utilizándolas para preparar una solución de trabajo de tampón.

50 **Solución madre de tampón:** Para preparar el tampón fosfato, preparar K₂HPO₄ 0,75 M y NaH₂PO₄ 0,75 M. Para el K₂HPO₄ 0,75 M: se disuelven 130 g de fosfato de potasio en 1 l de agua desionizada. Para NaH₂PO₄ 0,75 M: Se disuelven 90 g de fosfato de potasio en 1 l de agua desionizada.

55 **Solución de trabajo de tampón:** Para preparar una solución de trabajo de tampón fosfato, mezclar soluciones de K₂HPO₄ 0,75 M y NaH₂PO₄ 0,75 M (K₂HPO₄/NaH₂PO₄, 61,6:38,9, v/v) y diluir con agua desionizada (1:9, v/v). Esto producirá una solución de trabajo de 75 mM, pH 7,0. Almacenar esta solución tamponadora en el refrigerador hasta que se use.

Solución de RMCD 7 %

60 Se prepara una solución de RMCD al 7 % en peso mezclando 70 gramos de ciclodextrina metilada al azar hasta 1 en acetona: agua al 50 %.

Solución de fluoresceína

65 La solución de fluoresceína se obtiene preparando soluciones madre de fluoresceína y a continuación utilizándolas para preparar una solución de trabajo de fluoresceína.

Solución madre de fluoresceína: La solución madre de fluoresceína n.º 1 se prepara disolviendo 0,0225 g en 50 ml de tampón de fosfato de trabajo y mezclando bien. La solución madre de fluoresceína n.º 2 se prepara disolviendo 50 µl de solución madre n.º 1 en 10 ml de tampón de trabajo y centrifugando en vórtice. A continuación, se transfiere una alícuota de la solución madre n.º 2 a tubos Eppendorf de 1,8 ml y se almacena a -20 °C hasta que se usa.

5 **Solución de trabajo de fluoresceína:** Se pipetea 800 µl de solución madre n.º 2 a 50 ml de tampón fosfato (para dos ciclos) en un tubo cónico de 50 ml. Antes de usar, incubar en el baño de agua a 37 °C hasta que se caliente bien. Esta solución puede mantenerse en el baño de agua durante muchas horas.

10 Solución de AAPH

Se prepara una solución de AAPH disolviendo 0,108 g de AAPH en 5 ml de tampón fosfato incubado (37 °C) para sustancias hidrófilas (o 2,5 ml de tampón incubado para sustancias lipófilas) justo antes de comenzar el ensayo.

15 Procedimiento de microplacas

El procedimiento de microplacas empleado en el procedimiento ORAC usado en la determinación de la capacidad antioxidante total es:

- 20 1. Las muestras se diluyeron en tampón fosfato para ORAC hidrófilo y de solución RMCD 7 % para ORAC lipófilo.
2. Pipetear 40 µl de muestra, blanco y soluciones estándar Trolox en pocillos adecuados. Pipetear también 400 µl de solución de trabajo de fluoresceína en el pocillo seleccionado para el ajuste de ganancia.
- 25 4. Comprobar que se ha calentado el lector de placas a 37 °C y que está listo para leer las muestras.
5. El lector de microplacas añadió 400 µl de solución de trabajo de fluoresceína a cada pocillo en el ciclo 2.
6. El lector de microplacas añadió 40 µl de solución de trabajo de AAPH en el ciclo 4.
- 30 7. N.º de ciclos 35 a 201 segundos por ciclo.

Análisis de datos y cálculos

35 El análisis de datos y los cálculos utilizados en el procedimiento ORAC empleado en la determinación de la capacidad antioxidante total son:

Cálculo del área bajo la curva (AUC)

40 El área bajo la curva (AUC) se calculó como:

$$AUC = (0,5 + f_5/f_4 + f_6/f_4 + f_7/f_4 + \dots + f_i/f_4) CT$$

45 donde f_i = lectura de la fluorescencia en el ciclo i (es decir, f_4 = lectura de fluorescencia inicial en el ciclo 4), y CT = tiempo de ciclo en minutos. El valor de AUC neta se obtuvo sustrayendo la AUC del blanco de la de una muestra.

Cálculo del valor ORAC_{FL}

50 Los valores finales de ORAC_{FL} se calcularon usando una ecuación de regresión ($y = a + bx$, lineal; o $y = a + bx + cx^2$, cuadrática) entre la concentración estándar (µM) y el área neta bajo la curva de disminución de FL (AUC neta). Se usó regresión lineal en el intervalo de 6,25-50 µM Trolox. Los datos se expresan como micromoles Trolox equivalentes (TE) por gramo de peso seco de la muestra (µmol TE/g).

Estabilización

55 Se estabilizó el componente de salvado triturado (un salvado BM), con 25 % de peso de partícula > 500 micrómetros, 35 % en peso > 250 micrómetros, 20 % en peso > 150 micrómetros y 20 % en peso < 150 micrómetros usando tres condiciones mostradas en la Tabla 15. Se ajustó la humedad del salvado, antes de la estabilización, según el método descrito en el Ejemplo 1. Las condiciones de estabilización de la Tabla 15 empleadas son:

60

65

Tabla 15: Condiciones de estabilización para componentes de salvado

	Temperatura °C	Tiempo, min.	% en peso de humedad
LLL	100	3	10,29
MMM	120	5	11,17
HHH	140	7	14,73

5 La capacidad antioxidante total de cada componente de salvado después de la estabilización (muestras B, C y D) se midió por triplicado, se expresó como Trolox equivalentes, y se comparó con el control sin estabilizar (muestra A) y un salvado estabilizado comercial líder. Los resultados se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16: Capacidad antioxidante total y componentes de salvado estabilizado y sin estabilizar

Muestra de componente de salvado		hidrófilo $\mu\text{mol TE}^*/\text{g TROLOX}$	lipófilo $\mu\text{mol TE}^*/\text{g TROLOX}$	total $\mu\text{mol TE}^*/\text{g TROLOX}$
Un BM Mill Bran	A	165,79	19,06	184,86
Un BM Mill Bran	A	169,52	17,74	187,26
Un BM Mill Bran	A	165,22	19,48	184,70
	Prom.	166,84	18,76	185,61
Un BM Mill Bran LLL	B	196,54	26,23	222,76
Un BM Mill Bran LLL	B	190,45	26,19	216,64
Un BM Mill Bran LLL	B	195,39	26,00	221,40
	Prom.	194,13	26,14	220,27
Un BM Mill Bran MMM	C	175,93	14,92	190,85
Un BM Mill Bran MMM	C	181,33	15,65	196,98
Un BM Mill Bran MMM	C	178,21	16,76	194,97
	Prom.	178,49	15,78	194,27
Un BM Mill Bran HHH	D	191,83	13,97	205,80
Un BM Mill Bran HHH	D	186,12	14,58	200,71
Un BM Mill Bran HHH	D	179,14	14,78	193,92
	Prom.	185,70	14,44	200,14
Salvado Grain Millers	E	109,54	3,05	112,59
Salvado Grain Millers	E	125,59	3,22	128,80
Salvado Grain Millers	E	129,75	3,34	133,08
	Prom.	121,62	3,20	124,83

*TE = trolox equivalentes

10 Utilizando los Trolox equivalentes como medida de la capacidad antioxidante para el salvado estabilizado, como se muestra en la Tabla 16, el antioxidante de salvado estabilizado fue de aproximadamente 191 a aproximadamente 223 μmoles de TE por g en comparación con la capacidad antioxidante de salvado sin estabilizar de control de aproximadamente 185 a aproximadamente 187 μmoles de TE por gramo, lo que indica que el salvado estabilizado según el proceso expuesto en el Ejemplo 6 retiene toda su capacidad antioxidante original y supera la capacidad antioxidante del salvado estabilizado comercial líder de aproximadamente 112 a aproximadamente 133 μmoles de TE por g.

Ejemplo 7

20 Estabilización de salvado de arroz

En este ejemplo, se prepara un componente de salvado de arroz estabilizado, a partir de la molienda de arroz integral, y se analiza para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

25 Preparación del componente de salvado estabilizado

30 Se produjo un componente de salvado de arroz estabilizado utilizando salvado obtenido de la molienda de arroz integral usado en la producción de harina de arroz. El salvado tenía un contenido de humedad de aproximadamente 9,9 % y una humedad relativa de aproximadamente 51 %. Se midió el tamaño de partícula del salvado de arroz sin estabilizar mediante el uso de un agitador Ro-Tap con la ayuda de perlas de silicio para romper los agregados de partículas. El salvado de arroz sin triturar tenía una distribución de tamaño de partículas representativa de entre una fracción gruesa sin triturar y un componente grueso triturado o molido. El salvado de arroz sin triturar tenía una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 9,1 % en peso de partícula de > 841 micrómetros, aproximadamente 36 % de $>$

500 micrómetros pero menos de 841 micrómetros, aproximadamente 38,17 % de > 250 micrómetros, pero menos de 500 micrómetros, aproximadamente 7,1 % de > 149 micrómetros pero menor de 250 micrómetros y aproximadamente 9,7 % de <149 micrómetros. El salvado contenía aproximadamente 12,9 % en peso de almidón, determinado por medición yodométrica con el uso de un método como se describe en el ejemplo 1. Antes de la estabilización, la humedad del salvado se ajustó colocando el salvado en un desecador que contenía una solución salina saturada durante una semana a temperatura ambiente o en una sala de atmósfera controlada para ajustar uniformemente la humedad del salvado en incrementos de aproximadamente 9,5 % a 12,13 % de contenido de humedad según la Tabla 17:

Tabla 17: Condiciones de equilibrio de humedad para el salvado de arroz

Solución salina saturada	Humedad relativa	Humedad del salvado de arroz
Mg(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	52 %	9,45 %
Sala de atmósfera controlada	63 %	10,01 %
NH ₄ Cl	79 %	12,13 %

Se colocó el salvado, 20 g, en una bolsa de papel metalizado precintada con tres a cuatro pequeños orificios para liberar la presión al calentarlo. Se colocó una etiqueta no reversible de temperatura Omega dentro de cada bolsa para que sirviera como un instrumento de registro de la temperatura interna. El estudio se realizó según un diseño experimental descrito en la Tabla 18. El salvado se calentó en un horno de convección de aire forzado precalentado (Thelco modelo 26, Precision Scientific) durante 3, 5 o 7 minutos y a 100 °C, 120 °C y 140 °C para determinar el efecto de la humedad del salvado, el tiempo de calentamiento y la temperatura en la actividad de lipasa y la retención de vitaminas. Inmediatamente después del calentamiento, se enfriaron las bolsas de papel metalizado que contenían el salvado en un refrigerador y se colocó el salvado en un recipiente de vidrio precintado y se almacenó congelado. Se analizó una parte de la muestra para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

Determinación de la actividad de lipasa

Se halló que la actividad de lipasa, expresada como producto de hidrólisis en μmoles formados por hora por unidad de peso de salvado, era de 10,72 μmoles/h/0,1 g para el material de partida y se redujo a un valor de 1,57 a 2,09 μmoles/h/0,1 g a 10,01 % de humedad después del tratamiento de estabilización durante 5 minutos a 120 °C.

El diseño experimental para las condiciones de estabilización para tratar la fracción de salvado de arroz grueso se muestra en la Tabla 18:

Tabla 18: Diseño Experimental para la fracción gruesa de salvado de arroz

Núm. de muestra	Factor 1	Factor 2	Factor 3
	A: Temp., °C	B: Tiempo, min.	C: Humedad (% en peso)
1	100	3	9,45
2	100	3	12,13
3	100	7	9,45
4	100	7	12,13
5	120	5	10,01
6	120	5	10,01
7	140	3	9,45
8	140	3	12,13
9	140	7	9,45
10	140	7	12,13
11	140	7	10,01
12	140	3	10,01

Análisis de vitaminas

La retención de vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) y B2 (riboflavina) en el salvado estabilizado se midió según métodos estándar de análisis de vitaminas en alimentos.

Medición de la actividad de lipasa

El método utilizado para medición de la actividad de lipasa esterasa implica: 1) determinar la concentración óptima de sustrato (butirato de p-nitrofenilo (Sigma, 9876-5G) en acetonitrilo) para la máxima actividad de lipasa; 2) dispersar el salvado en tampón de pH 7,5; 3) añadir sustrato de butirato de p-nitrofenilo; 4) realizar la medición espectrofotométrica de la actividad esterasa del salvado mediante la liberación de p-nitrofenol, que absorbe a 340 nm.

Los materiales, instrumentos y métodos empleados para medir la actividad de lipasa son:

Materiales:

- 5 1. Tampón fosfato (pH 7,5, 0,2 M)
2. Butirato de *p*-nitrofenilo (*p*-NPB) (Sigma, 9876-5G)
- 10 3. acetonitrilo

Instrumentos:

- 15 1. Espectrofotómetro
2. Centrífuga, capaz de alcanzar 1000 g.

Método:

- 20 A. Determinación de la concentración óptima del sustrato
 1. Disolver *p*-NPB en acetonitrilo, de manera que su concentración sea de 10,75 mM;
 2. Pesar 0,02 g de muestra de salvado en un tubo de centrífuga.
 - 25 3. Añadir 9,7, 9,5 o 9,3 ml de tampón fosfato (pH 7,5) al tubo.
 4. Añadir 0,3, 0,5 o 0,7 ml de *p*-NPB 10,75 mM, correspondientemente, para obtener volumen total de muestra de 10 ml. Registrar el tiempo exacto de la adición de *p*-NPB y agitar el tubo de muestra.
 - 30 5. Colocar en un baño de agua a 25 °C durante 20 min.
 6. Después de 20 min de adición de *p*-NPB, centrifugar la muestra a 1000 g durante 5 min.
 - 35 7. Medir la absorbancia del sobrenadante (A_t , absorbancia total) a 400 nm exactamente 30 min después de la adición de *p*-NPB;
 8. Para determinar la absorbancia (A_s) del salvado, repetir las etapas 2 y 3 anteriores, excepto que se deben añadir 10 ml de tampón fosfato y no se debe añadir *p*-NPB, y el tiempo debe registrarse después de la adición del tampón. Repetir las etapas 5, 6 y 7.
 - 40 9. Usar agua desionizada como blanco (A_o).
 10. Calcular la absorbancia de la muestra (A) sustrayendo la absorbancia del blanco y del salvado de la absorbancia total, del modo siguiente:
 - 45
$$\text{absorbancia de muestra (A)} = \text{absorbancia total (A}_t\text{)} - \text{absorbancia del blanco (A}_o\text{)} - \text{absorbancia del salvado (A}_s\text{)}$$
 - 50 11. Calcular la actividad de lipasa a partir los siguientes valores de la curva de calibración:

$$\mu\text{moles de } p\text{-NPB hidrolizado} = (A - 0,0555) / 1,380$$
 y haciendo ajustes para el peso de la muestra y el tiempo de reacción, del siguiente modo:

$$\mu\text{moles de } p\text{-NPB hidrolizado/hora/0,1 g}$$
 - 55 12. Elegir la concentración óptima del sustrato a partir de la mayor actividad de lipasa registrada (ver Tabla 19):

Tabla 19: Determinación de la concentración óptima del sustrato

Volumen de 10,75 mM <i>p</i> -NPB añadido (ml)	Volumen de tampón fosfato de pH 7,5 añadido (ml)	Actividad de lipasa ($\mu\text{moles/h/0,1 g}$)
0,3	9,7	6,91
0,5	9,5	8,74
0,7	9,3	5,32

60

B. Determinación de la actividad de lipasa en muestras de diseño experimental

1. A partir de los resultados mostrados en la Tabla 19, la concentración óptima del sustrato fue de 0,5 ml de p-NPB 10,75 nM.

2. Para obtener los valores de absorbancia por debajo de 0,8 (de modo que estén dentro del intervalo lineal del espectrofotómetro), y manteniendo la misma concentración de muestra a sustrato (0,02 g de salvado + 0,5 ml de p-NPB), se deben añadir 10 ml adicionales de solución tampón (total de 19,5 ml de solución tampón). La absorbancia de la muestra se ajusta a continuación como sigue:

absorbancia de muestra (A) = [absorbancia total (A_t) - absorbancia del blanco (A_o) - absorbancia del salvado (A_s)]*2 para corregir para la dilución de muestra.

3. Seguir el mismo procedimiento que en (A) «Determinación de la concentración óptima del sustrato».

Resultados:

En la Tabla 20, se resumen para el tratamiento de estabilización de doce muestras de salvado de arroz grueso, dos muestras de salvado de arroz estabilizado comerciales, y una muestra de control de salvado de arroz sin estabilizar: 1) la cantidad de actividad enzimática de lipasa, base en peso seco, 2) la reducción del porcentaje de actividad de lipasa, 3) las condiciones de tratamiento, incluida la humedad, el tiempo y la temperatura, 4) el contenido de vitaminas:

Tabla 20: Actividad de lipasa y retención de vitaminas en el salvado de arroz

Núm. de muestra	Almacenamiento de la muestra	Temp. °C	Temp. real °C	Tiempo min	Humedad		% HR antes, °C	Actividad de lipasa (µmoles/h/0,1 g)	% red.	Retención de vitaminas		
					% en peso antes	% en peso después				E (IU/100 g)	B1 (mg/100 g)	B2 (mg/100 g)
1	Mg(NO ₃) ₂	100	82-88	3	9,455	9,422	47,4; 23,7	6,43	40,00	4,8	2,19	0,18
2	NH ₄ Cl	100	82-88	3	12,129	11,807	69,9; 24,6	1,64	84,72			
3	Mg(NO ₃) ₂	100	88	7	9,455	8,717	47,4; 23,7	1,91	82,19	4,4	2,25	0,17
4	NH ₄ Cl	100	88	7	12,129	11,007	69,9; 24,6	1,31	87,78			
5	sala 63 %	120	99	5	10,013	9,694	54,9; 22,9	2,09	80,48			
6	sala 63 %	120	99	5	10,013	9,495	54,9; 22,9	1,57	85,35			
7	Mg(NO ₃) ₂	140	104	3	9,455	9,003	47,4; 23,7	1,94	81,90	4,5	2,14	0,17
8	NH ₄ Cl	140	104	3	12,129	11,56	69,9; 24,6	1,36	87,28	2,2	2,12	0,17
9	Mg(NO ₃) ₂	140	121	7	9,455	6,762	47,4; 23,7	1,30	87,83			
10	NH ₄ Cl	140	121	7	12,129	8,312	69,9; 24,6	1,30	87,88			
11	sala 63 %	140	121	7	10,013	7,054	54,9; 22,9	1,59	85,12			
12	sala 63 %	140	104	3	10,013	8,067	54,9; 22,9	1,36	87,29			
Salvado de arroz sin estabilizar					9,924		51,2; 23,9	10,72		7,0	2,2	0,17
Salvado de arroz estabilizado (grasa entera), comercial					8,177		46,1; 25,4	0,00	100,00	4,0	1,74	0,11
Salvado de arroz estabilizado (desgrasado), comercial					10,446		51,5; 26,0	0,00	100,00	1,2	1,91	0,17

Como se indica en la Tabla 20, el tratamiento del componente de salvado de arroz grueso, sin triturar con un contenido de humedad en el intervalo de aproximadamente 9,5 % en peso a aproximadamente 12,13 % en peso durante un período de aproximadamente 3 minutos a aproximadamente 7 minutos a una temperatura de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C redujo la actividad de lipasa de aproximadamente 10,72 µmoles/hora/0,1 g para el material de partida sin estabilizar hasta el intervalo de 6,43 µmoles/hora/0,1 g a aproximadamente 1,30 µmoles/hora/0,1 g, dependiendo de las condiciones de tratamiento, con el tiempo de tratamiento más largo, el mayor contenido de humedad y la temperatura de tratamiento más alta que proporcionan la menor actividad de lipasa. Los resultados también indican que los valores de vitamina E (tocoferol), vitamina B1 (tiamina) y vitamina 2 (riboflavina) se habían mantenido bien. El salvado de arroz grueso sin triturar presentó reducciones porcentuales de lipasa comprendidas de 40 % a 87,88 %, dependiendo de las condiciones de estabilización. Se obtendrían reducciones porcentuales mayores en la actividad de lipasa, en cualquier condición de estabilización, si el salvado de arroz se triturase hasta un tamaño de partículas más pequeño de un componente de salvado triturado grueso antes de la estabilización debido a que la trituración aumentaría el acceso de humedad y el calor para la desactivación. Sin embargo, realizando la trituración después de la estabilización se podría aumentar la actividad de lipasa porque la lipasa es una enzima activa de superficie y la trituración aumenta la superficie específica y aumenta la accesibilidad al sustrato enzimático.

Ejemplo 8Estabilización de salvado de avena

- 5 En este ejemplo, se prepara un componente de salvado de avena estabilizado, a partir de la molienda de grañones de avena sin cáscara enteros, y se analiza para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

Preparación del componente de salvado estabilizado

- 10 Se produjo un componente de salvado de avena estabilizado utilizando salvado obtenido de la molienda de grañones de avena sin cáscara enteros para obtener harina de avena integral. La parte de la harina de avena integral que permaneció sobre el tamiz del n.º 60 (estándar de EE. UU.) se consideró como la parte de salvado. El salvado tenía un contenido de humedad de aproximadamente 9,8 % y una humedad relativa de aproximadamente 29 %. Se midió el tamaño de partícula del salvado de avena triturado sin estabilizar mediante el uso de un agitador Ro-Tap con la ayuda de perlas de silicio para romper los agregados de partículas. El salvado de avena triturado tenía una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0 % en peso de partículas de > 841 micrómetros, aproximadamente 32,87 % de > 500 micrómetros pero menos de 841 micrómetros, aproximadamente 35,12 % de > 250 micrómetros, pero menos de 500 micrómetros, aproximadamente 5,59 % de > 149 micrómetros pero menos de 250 micrómetros y aproximadamente 26,42 % de <149 micrómetros. El salvado contenía aproximadamente 22,5 % en peso de almidón, determinado por medición yodométrica con el uso de un método como se describe en el Ejemplo 1. Antes de la estabilización, la humedad de salvado se ajustó colocando el salvado en un desecador que contenía una solución salina saturada durante una semana a temperatura ambiente o en una sala de atmósfera controlada para ajustar uniformemente la humedad del salvado en incrementos de aproximadamente 10,97 % a 13,89 % de contenido de humedad según la Tabla 21:

- 25 *Tabla 21: Condiciones de equilibrio de humedad para el salvado de avena*

Solución salina saturada	Humedad relativa	Humedad del salvado de avena
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	52 %	10,97 %
Sala de atmósfera controlada	63 %	12,25 %
NH ₄ Cl	79 %	13,89 %

- 30 Se colocó el salvado, 20 g, en una bolsa de papel metalizado precintada con tres a cuatro pequeños orificios para liberar la presión al calentarlo. Se colocó una etiqueta no reversible de temperatura Omega dentro de cada bolsa para que sirviera de instrumento de registro de la temperatura interna. El estudio se realizó según el diseño experimental descrito en la Tabla 22. El salvado se calentó en un horno de convección de aire forzado precalentado (Thelco modelo 26, Precision Scientific) durante 3, 5 o 7 minutos y a 100 °C, 120 °C y 140 °C para determinar el efecto de la humedad del salvado, el tiempo de calentamiento y la temperatura en la actividad de lipasa y la retención de vitaminas. Inmediatamente después del calentamiento, se enfriaron las bolsas de papel metalizado que contenían el salvado en un refrigerador, se colocó el salvado en un recipiente de vidrio precintado y se almacenó congelado. Se analizó una parte de la muestra para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

Determinación de la actividad de lipasa

- 40 Se halló que la actividad de lipasa, expresada como producto de hidrólisis en µmoles formados por hora por unidad de peso de salvado, era de 5,81 µmoles/h/0,1 g para el material de partida y se redujo a un valor de 0,60 a 0,63 µmoles/h/0,1 g a 12,25 % de humedad después del tratamiento de estabilización durante 5 minutos a 120 °C.

- 45 El diseño experimental para las condiciones de estabilización para tratar la fracción de salvado de avena gruesa triturada se muestra en la Tabla 22:

Tabla 22: Diseño experimental para la fracción gruesa triturada de salvado de avena

Núm. de muestra	Factor 1 A: Temp., °C	Factor 2 B: Tiempo, min.	Factor 3 C: Humedad (% en peso)
1	100	3	10,97
2	100	3	13,89
3	100	7	10,97
4	100	7	13,89
5	120	5	12,25
6	120	5	12,25
7	140	3	10,97
8	140	3	13,89
9	140	7	10,97

10	140	7	13,89
11	140	7	12,25
12	140	3	12,25

Análisis de vitaminas

5 La retención de vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) y B2 (riboflavina) en el salvado estabilizado se midió según métodos estándar de análisis de vitaminas en alimentos.

Medición de la actividad de lipasa

10 El método utilizado para medición de la actividad de lipasa esterasa implica: 1) determinar la concentración óptima de sustrato (butirato de *p*-nitrofenilo (Sigma, 9876-5G) en acetonitrilo) para la máxima actividad de lipasa; 2) dispersar el salvado en tampón de pH 7,5; 3) añadir sustrato de butirato de *p*-nitrofenilo; 4) realizar la medición espectrofotométrica de la actividad esterasa del salvado mediante la liberación de *p*-nitrofenol, que absorbe a 340 nm.

15 Los materiales, instrumentos y métodos empleados para medir la actividad de lipasa son:

Materiales:

1. Tampón fosfato (pH 7,5, 0,2 M)
- 20 2. Butirato de *p*-nitrofenilo (*p*-NPB) (Sigma, 9876-5G)
3. Acetonitrilo

Instrumentos:

- 25 1. Espectrofotómetro
2. Centrífuga, capaz de alcanzar 1000 g.

Método:

- A. Determinación de la concentración óptima del sustrato
 1. Disolver *p*-NPB en acetonitrilo, de manera que su concentración sea de 10,75 mM.
 - 35 2. Pesar 0,02 g de muestra de salvado en un tubo de centrifuga.
 3. Añadir 9,5, 9,0 o 8,5 ml de tampón fosfato (pH 7,5) al tubo.
 - 40 4. Añadir 0,5, 1,0 o 1,5 ml de *p*-NPB 10,75 mM, correspondientemente, para obtener un volumen total de muestra de 10 ml. Registrar el tiempo exacto de la adición de *p*-NPB y agitar el tubo de muestra.
 5. Colocar en un baño de agua a 25 °C durante 20 min.
 - 45 6. Después de 20 min de adición de *p*-NPB, centrifugar la muestra a 1000 g durante 5 min.
 7. Medir la absorbancia del sobrenadante (A_t , absorbancia total) a 400 nm exactamente 30 min después de la adición de *p*-NPB.
 - 50 8. Para determinar la absorbancia (A_s) del salvado, repetir las etapas 2 y 3 anteriores, excepto que se deben añadir 10 ml de tampón fosfato y no se debe añadir *p*-NPB, y el tiempo debe registrarse después de la adición del tampón. Repetir las etapas 5, 6 y 7.
 - 55 9. Usar agua desionizada como blanco (A_o).
 10. Calcular la absorbancia de la muestra (A) sustrayendo la absorbancia del blanco y del salvado de la absorbancia total, del modo siguiente:

$$\text{absorbancia de muestra (A)} = \text{absorbancia total (A}_t\text{)} - \text{absorbancia del blanco (A}_o\text{)} - \text{absorbancia del salvado (A}_s\text{)}$$
 - 60 11. Calcular la actividad de lipasa a partir los siguientes valores de la curva de calibración:

μmoles de *p*-NPB hidrolizado = (A-0,0555)/1.380 y hacer ajustes por el peso de la muestra y el tiempo de reacción, del siguiente modo:

μmol de *p*-NPB hidrolizado/hora/0,1 g

12. Elegir la concentración óptima del sustrato a partir de la mayor actividad de lipasa registrada (ver Tabla 23):

Tabla 23: Determinación de la concentración óptima del sustrato

Volumen de 10,75 mM <i>p</i> -NPB añadido (ml)	Volumen de tampón fosfato de pH 7,5 añadido (ml)	Actividad de lipasa (μmoles/h/0,1 g)
0,5	9,5	6,91
1	9,0	8,74
1,5	8,5	5,32

B. Determinación de la actividad de lipasa en muestras de diseño experimental

1. A partir de los resultados mostrados en la Tabla 23, la concentración óptima del sustrato fue de 1,0 ml de *p*-NPB 10,75 nM.

2. Para obtener los valores de absorbancia por debajo de 0,8 (de modo que estén dentro del intervalo lineal del espectrofotómetro), y manteniendo la misma concentración de muestra a sustrato (0,02 g de salvado + 1,0 ml de *p*-NPB), se deben añadir 10 ml adicionales de solución tampón (total de 19,0 ml de solución tampón). La absorbancia de la muestra se ajusta a continuación como sigue:

absorbancia de muestra (A) = [absorbancia total (A_t) - absorbancia del blanco (A₀) - absorbancia del salvado (A_s)]*2 para corregir para la dilución de muestra.

3. Seguir el mismo procedimiento que en (A) "Determinación de la concentración óptima del sustrato".

Resultados:

En la Tabla 24 se resumen, para el tratamiento de estabilización de doce muestras de salvado de avena grueso triturado, una muestra de salvado de avena estabilizado comercial y una muestra de control de salvado de avena grueso triturado sin estabilizar: 1) la cantidad de actividad enzimática de lipasa, base en peso seco, 2) la reducción del porcentaje de actividad de lipasa, 3) las condiciones de tratamiento, incluida la humedad, el tiempo y la temperatura, 4) el contenido de vitaminas:

Tabla 24: Actividad de lipasa y retención de vitaminas en el salvado de avena

Núm. de muestra	Almacenamiento de la muestra	Temp. °C	Temp. real °C	Tiempo min	Humedad		% HR antes, °C	Actividad de lipasa (μmoles/h/0,1 g)	% red.	Retención de vitaminas		
					% en peso antes	% en peso después				E (IU/100 g)	B1 (mg/100 g)	B2 (mg/100 g)
1	Mg(NO ₃) ₂	100	82-88	3	10,968	10,813	48,4; 24,7	4,39	24,51	0,90	0,99	0,12
2	NH ₄ Cl	100	82-88	3	13,891	13,015	68,2; 23,8	1,46	74,90			
3	Mg(NO ₃) ₂	100	88-93	7	10,968	10,251	48,4; 24,7	2,03	65,11	1,00	1,01	0,12
4	NH ₄ Cl	100	88-93	7	13,891	12,762	68,2; 23,8	0,18	96,92			
5	sala 63 %	120	99-104	5	12,252	11,237	55,5; 22,6	0,60	89,66			
6	sala 63 %	120	99-104	5	12,252	10,641	55,5; 22,6	0,63	89,13			
7	Mg(NO ₃) ₂	140	104-110	3	10,968	10,150	48,4; 24,7	0,87	85,07	0,90	0,97	0,12
8	NH ₄ Cl	140	104-110	3	13,891	12,164	68,2; 23,8	0,77	86,82	0,80	0,95	0,12
9	Mg(NO ₃) ₂	140	121-127	7	10,968	9,100	48,4; 24,7	0,65	88,74			
10	NH ₄ Cl	140	121-127	7	13,891	7,700	68,2; 23,8	0,26	95,50			
11	sala 63 %	140	121-127	7	12,252	8,088	55,5; 22,6	0,18	96,90			
12	sala 63 %	140	104-110	3	12,252	11,101	55,5; 22,6	0,32	94,47			
Salvado de avena sin estabilizar					9,842		29,3; 23,6	5,81		1,00	1,10	0,13
Salvado de avena estabilizado, comercial					6,156		16,5; 23,3	0,00	100,00	0,50	0,74	0,10

Como se indica en la Tabla 24, el tratamiento del componente de salvado de avena grueso, triturado con un contenido de humedad en el intervalo de aproximadamente 10,97 % en peso a aproximadamente 13,89 % en peso durante un período de aproximadamente 3 minutos a aproximadamente 7 minutos a una temperatura de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C redujo la actividad de lipasa de aproximadamente 5,81 μmoles/hora/0,1 g para el material de

partida sin estabilizar hasta el intervalo de 4,39 μ moles/hora/0,1 g a aproximadamente 0,18 μ moles/hora/0,1 g, dependiendo de las condiciones de tratamiento, con: 1) el mayor tiempo de tratamiento, y la más alta temperatura de tratamiento, y 2) el mayor tiempo de tratamiento y el más alto contenido de humedad que proporcionan la menor actividad de lipasa. Los resultados también indican que los valores de vitamina E (tocoferol), vitamina B1 (tiamina) y vitamina 2 (riboflavina) se habían mantenido bien. El salvado de avena grueso triturado presentó reducciones porcentuales de lipasa que varían de 24,51 % a 96,92 %, dependiendo de las condiciones de estabilización.

Ejemplo 9

10 Estabilización de salvado de maíz

En este ejemplo, se prepara un componente de salvado de maíz estabilizado, a partir de la molienda de semillas de maíz enteras, y se analiza para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

15 Preparación del componente de salvado estabilizado

Se produjo un componente de salvado de maíz estabilizado utilizando salvado obtenido a partir de la molienda de semillas de maíz enteras para obtener harina de maíz integral. La parte de la harina de maíz integral retenida sobre el tamiz del n.º 50 (estándar de EE. UU.) se consideró como la parte de salvado. El salvado tenía un contenido de humedad de aproximadamente 10,76 % y una humedad relativa de aproximadamente 42,0 %. Se midió el tamaño de partícula del salvado de maíz triturado sin estabilizar mediante el uso de un agitador Ro-Tap con la ayuda de perlas de silicio para romper los agregados de partículas. El salvado de maíz triturado tenía una distribución de tamaño de partículas de aproximadamente 0 % en peso de partícula de > 841 micrómetros, aproximadamente 6,94 % de > 500 micrómetros pero menos de 841 micrómetros, aproximadamente 51,53 % de > 250 micrómetros, pero menos de 500 micrómetros, aproximadamente 27,92 % de > 149 micrómetros pero menos de 250 micrómetros y aproximadamente 13,61 % de <149 micrómetros. El salvado contenía aproximadamente 34,6 % en peso de almidón, determinado por medición yodométrica con el uso de un método como se describe en el Ejemplo 1. Antes de la estabilización, la humedad de salvado se ajustó colocando el salvado en un desecador que contenía una solución salina saturada durante una semana a temperatura ambiente o en una sala de atmósfera controlada para ajustar uniformemente la humedad del salvado en incrementos de aproximadamente 11,42 % a 13,85 % de contenido de humedad según la Tabla 25:

Tabla 25: Condiciones de equilibrio de humedad para el salvado de maíz

Solución salina saturada	Humedad relativa	Humedad del salvado de maíz
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	52 %	11,42 %
Sala de atmósfera controlada	63 %	11,74 %
NH ₄ Cl	79 %	13,85 %

35 Se colocó el salvado, 20 g, en una bolsa precintada con tres a cuatro pequeños orificios para liberar la presión al calentarlo. Se colocó una etiqueta no reversible de temperatura Omega dentro de cada bolsa para que sirviera como un instrumento de registro de la temperatura interna. El estudio se realizó según un diseño experimental descrito en la Tabla 26. El salvado se calentó en un horno de convección de aire forzado precalentado (Thelco modelo 26, Precision Scientific) durante 3, 5 o 7 minutos y a 100 °C, 120 °C y 140 °C para determinar el efecto de la humedad del salvado, el tiempo de calentamiento y la temperatura en la actividad de lipasa y la retención de vitaminas. Inmediatamente después del calentamiento, se enfriaron las bolsas de papel metalizado que contenían el salvado en un refrigerador, se colocó el salvado en un recipiente de vidrio precintado y se almacenó congelado. Se analizó una parte de la muestra para determinar la actividad de lipasa y la retención de vitaminas.

45 Determinar la actividad de lipasa

Se halló que la actividad de lipasa, expresada como producto de hidrólisis en μ moles formados por hora por unidad de peso de salvado, era de 1,96 μ moles/h/0,1 g para el material de partida y se redujo a un valor de 0 μ moles/h/0,1 g a 11,74 % de humedad después del tratamiento de estabilización durante 5 minutos a 120 °C.

El diseño experimental para las condiciones de estabilización para tratar la fracción de salvado de maíz grueso triturado se muestra en la Tabla 26:

Tabla 26: Diseño experimental para la fracción gruesa triturada de salvado de maíz

Núm. de muestra	Factor 1 A: Temp., °C	Factor 2 B: Tiempo, min.	Factor 3 C: Humedad (% en peso)
1	100	3	11,42
2	100	3	13,85
3	100	7	11,42

4	100	7	13,85
5	120	5	11,74
6	120	5	11,74
7	140	3	11,42
8	140	3	13,85
9	140	7	11,42
10	140	7	13,85
11	140	7	11,74
12	140	3	11,74

Análisis de vitaminas

5 La retención de vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) y B2 (riboflavina) en el salvado se midió según métodos estándar de análisis de vitaminas en alimentos.

Medición de la actividad de lipasa

10 El método utilizado para medición de la actividad de lipasa esterasa implica: 1) determinar la concentración óptima de sustrato (butirato de *p*-nitrofenilo (Sigma, 9876-5G) en acetonitrilo) para la máxima actividad de lipasa; 2) dispersar el salvado en tampón de pH 7,5; 3) añadir sustrato de butirato de *p*-nitrofenilo; 4) realizar la medición espectrofotométrica de la actividad esterasa del salvado mediante la liberación de *p*-nitrofenol, que absorbe a 340 nm.

15 Los materiales, instrumentos y métodos empleados para medir la actividad de lipasa son:

Materiales:

1. Tampón fosfato (pH 7,5, 0,2 M)
- 20 2. Butirato de *p*-nitrofenilo (*p*-NPB) (Sigma, 9876-5G)
3. Acetonitrilo

Instrumentos:

- 25 1. Espectrofotómetro
2. Centrifuga, capaz de alcanzar 1000 g.

Método:

- A. Determinación de la concentración óptima del sustrato
 1. Disolver *p*-NPB en acetonitrilo, de manera que su concentración sea de 10,75 mM.
 - 35 2. Pesar 0,02 g de muestra de salvado en un tubo de centrifuga.
 3. Añadir 9,8, 9,5 o 9,0 ml de tampón fosfato (pH 7,5) al tubo.
 - 40 4. Añadir 0,2, 0,5 o 1,0 ml de *p*-NPB 10,75 mM, correspondientemente, para obtener un volumen total de muestra de 10 ml. Registrar el tiempo exacto de la adición de *p*-NPB y agitar el tubo de muestra.
 5. Colocar en un baño de agua a 25 °C durante 20 min.
 - 45 6. Después de 20 min de adición de *p*-NPB, centrifugar la muestra a 1000 g durante 5 min;
 7. Medir la absorbancia del sobrenadante (A_t , absorbancia total) a 400 nm exactamente 30 min después de la adición de *p*-NPB.
 - 50 8. Para determinar la absorbancia (A_s) del salvado, repetir las etapas 2 y 3 anteriores, excepto que se deben añadir 10 ml de tampón fosfato y no se debe añadir *p*-NPB, y el tiempo debe registrarse después de la adición del tampón. Repetir las etapas 5, 6 y 7.
 - 55 9. Usar agua desionizada como blanco (A_o).

10. Calcular la absorbancia de la muestra (A) sustrayendo la absorbancia del blanco y del salvado de la absorbancia total, del modo siguiente:

$$\text{absorbancia de muestra (A)} = \text{absorbancia total (A}_t\text{)} - \text{absorbancia del blanco (A}_o\text{)} - \text{absorbancia del salvado (A}_s\text{)}$$

11. Calcular la actividad de lipasa a partir los siguientes valores de la curva de calibración:

$\mu\text{moles de } p\text{-NPB hidrolizado} = (A - 0,0555) / 1.380$ y hacer ajustes por el peso de la muestra y el tiempo de reacción, del siguiente modo:

$\mu\text{mol de } p\text{-NPB hidrolizado/hora/0,1 g}$

12. Elegir la concentración óptima del sustrato a partir de la mayor actividad de lipasa registrada (ver Tabla 27):

Tabla 27: Determinación de la concentración óptima del sustrato

Volumen de 10,75 mM <i>p</i> -NPB añadido (ml)	Volumen de tampón fosfato de pH 7,5 añadido (ml)	Actividad de lipasa ($\mu\text{moles/h/0,1 g}$)
0,2	9,8	1,21
0,5	9,5	1,60
1,0	9,0	1,46

B. Determinación de la actividad de lipasa en muestras de diseño experimental

1. A partir de los resultados mostrados en la Tabla 27, la concentración óptima del sustrato fue de 0,5 ml de *p*-NPB 10,75 mM.

2. Los valores de absorbancia fueron inferiores a 0,8, por lo tanto, no se necesitaron ajustes necesarios para estar dentro del intervalo lineal del espectrofotómetro. El volumen total de muestra se mantuvo a 10 ml.

3. Seguir el mismo procedimiento que en (A) "Determinación de la concentración óptima del sustrato".

Resultados:

En la Tabla 28 se resumen, para el tratamiento de estabilización de doce muestras de salvado de maíz grueso triturado, una muestra de salvado de maíz estabilizado comercial y una muestra de control de salvado de maíz grueso triturado sin estabilizar: 1) la cantidad de actividad enzimática de lipasa, base en peso seco, 2) la reducción del porcentaje de actividad de lipasa, 3) las condiciones de tratamiento, incluida la humedad, el tiempo y la temperatura, y 4) el contenido de vitaminas:

Tabla 28: Actividad de lipasa y retención de vitaminas en el salvado de maíz

Núm. de muestra	Almacenamiento de la muestra	Temp. °C	Temp. real °C	Tiempo min	Humedad		% HR antes, °C	Actividad de lipasa ($\mu\text{moles/h/0,1 g}$)	% red.	Retención de vitaminas		
					% en peso antes	% en peso después				E (IU/100 g)	B1 (mg/100 g)	B2 (mg/100 g)
1	Mg(NO ₃) ₂	100	82-88	3	11,423	11,373	51,1; 24,0	1,37	30,07	0,80	0,18	0,04
2	NH ₄ Cl	100	82-88	3	13,847	13,647	72,9; 24,2	0,20	89,73			
3	Mg(NO ₃) ₂	100	88-93	7	11,423	10,767	51,1; 24,0	0,35	82,40	0,70	0,16	0,04
4	NH ₄ Cl	100	88-93	7	13,847	12,998	72,9; 24,2	0,01	99,74			
5	sala 63 %	120	99-104	5	11,743	10,756	56,2; 24,2	0,00	100,00			
6	sala 63 %	120	99-104	5	11,743	11,334	56,2; 24,2	0,00	100,00			
7	Mg(NO ₃) ₂	140	104-110	3	11,423	10,922	51,1; 24,0	0,24	87,94	0,90	0,16	0,03
8	NH ₄ Cl	140	104-110	3	13,847	13,755	72,9; 24,2	0,00	100,00	0,80	0,16	0,04
9	Mg(NO ₃) ₂	140	116-121	7	11,423	9,212	51,1; 24,0	0,00	100,00			
10	NH ₄ Cl	140	104-110	7	13,847	9,772	72,9; 24,2	0,00	100,00			
11	sala 63 %	140	116-121	7	11,743	9,040	56,2; 24,2	0,00	100,00			
12	sala 63 %	140	99-104	3	11,743	11,735	56,2; 24,2	0,00	100,00			
Salvado de maíz sin estabilizar					10,764		42,0; 22,3	1,96		0,80	0,16	0,04
Maíz Wise 80					8,880		43,1; 23,2	0,90	54,18	0,80	0,07	0,05

Como se indica en la Tabla 28, el tratamiento del componente de salvado de avena grueso, triturado con un contenido de humedad en el intervalo de aproximadamente 11,42 % en peso a aproximadamente 13,85 % en peso

5 durante un período de aproximadamente 3 minutos a aproximadamente 7 minutos a una temperatura de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 140 °C redujo la actividad de lipasa de aproximadamente 1,96 $\mu\text{moles/hora/0,1 g}$ para el material de partida sin estabilizar hasta el intervalo de 1,37 $\mu\text{moles/hora/0,1 g}$ a 0,00 $\mu\text{moles/hora/0,1 g}$, dependiendo de las condiciones de tratamiento, con el tiempo de tratamiento más largo, el mayor contenido de humedad y la temperatura de tratamiento más alta que proporcionan la menor actividad de lipasa. Los resultados también indican que los valores de vitamina E (tocoferol), vitamina B1 (tiamina) y vitamina B2 (riboflavina) se habían mantenido bien. El salvado de maíz grueso triturado presentó reducciones porcentuales de lipasa que varían de 30,07 % a 100,00 %, dependiendo de las condiciones de estabilización.

REIVINDICACIONES

1. Un método de producción de una harina integral estabilizada que comprende:
 - a. someter una fracción gruesa que comprende salvado, germen y almidón a trituración o molienda para reducir la arenosidad de la fracción gruesa sin dañar el almidón, siendo la cantidad de salvado al menos 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa,
 - b. estabilizar la fracción gruesa calentando la fracción gruesa para reducir la actividad de lipasa de la fracción gruesa, en donde la fracción gruesa triturada estabilizada tiene una entalpía de fusión del almidón superior a 4 J/g, con respecto al peso del almidón en la fracción gruesa triturada estabilizada, medida mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), a una temperatura máxima de 65 °C a 70 °C, y una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio-agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 200 %, y
 - c. combinar la fracción gruesa estabilizada con una fracción fina que comprende endosperma para obtener una harina integral estabilizada, en donde dicha harina de trigo integral estabilizada tiene una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio-agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 85 %, en donde la fracción fina no se somete a estabilización, para evitar la gelatinización sustancial del almidón y la estabilización de la fracción gruesa por calentamiento evita la gelatinización sustancial del almidón contenido en la fracción gruesa.
2. Un método según la reivindicación 1, en donde la cantidad de almidón es de 15 % en peso a 35 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
3. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha fracción gruesa comprende al menos 60 % en peso de salvado, y al menos 10 % en peso de germen, con respecto al peso de la fracción gruesa, y dicha fracción fina comprende al menos 90 % en peso de endosperma en una base de sólidos y tiene una distribución de tamaño de partículas inferior a 10 % en peso que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, inferior o igual a 80 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de 20 % en peso a 65 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros.
4. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha estabilización incluye tratar dicha fracción gruesa con un metabisulfito alcalino comestible en una cantidad estabilizante.
5. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha harina integral estabilizada tiene una distribución de tamaño de partículas inferior a 10 % en peso sobre un tamiz de 500 micrómetros (estándar de EE. UU, del n.º 35), e inferior a 70 % en peso a través de un tamiz de 149 micrómetros (estándar de EE. UU, del n.º 100).
6. El método de la reivindicación 1, en donde la fracción gruesa que se tritura o muele en la etapa a. se obtiene:
 - molturando granos de cereal enteros para obtener granos de cereal enteros triturados,
 - someter los granos de cereal triturados a una operación de separación para obtener una fracción gruesa que comprende salvado, germen y almidón, y una fracción fina que comprende endosperma, teniendo dicha fracción gruesa un contenido de salvado de al menos 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa,

en donde, en la etapa a., la fracción gruesa se tritura hasta obtener una fracción triturada que tiene una distribución de tamaño de partículas de al menos 40 % en peso con un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, e inferior que o igual a 35 % en peso que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, en la etapa b., la fracción gruesa triturada se estabiliza mediante calentamiento para reducir la actividad de lipasa a menos de 3 micromoles de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramos de la fracción triturada estabilizada, evitándose al mismo tiempo un contenido de acrilamida superior a 150 ppb, con respecto al peso de la fracción triturada estabilizada, y la harina integral estabilizada obtenida en la etapa c. tiene una actividad de lipasa inferior a 1,5 micromoles de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramos de la harina integral estabilizada y un contenido de acrilamida inferior a 45 ppb, con respecto al peso de la harina integral estabilizada.
7. El método de la reivindicación 1, en donde la fracción gruesa triturada estabilizada obtenida en la etapa b. tiene una distribución de tamaño de partículas de al menos 40 % en peso de la fracción que tiene un tamaño de partículas de al menos 149 micrómetros y teniendo menos de o igual a 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros.
8. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha estabilización de la fracción gruesa evita una producción sustancial de acrilamida, evitándose también al mismo tiempo una pérdida sustancial de tocoferoles, tiamina y riboflavina, y manteniendo una capacidad de eliminación de radicales libres de antioxidante de no menos de 150 micromoles Trolox equivalentes por gramo.

9. Un método según la reivindicación 1 en donde dicha fracción gruesa se somete a dicha trituración o molienda antes o después de dicha estabilización de la fracción gruesa.
- 5 10. Un método según la reivindicación 1 en donde la cantidad de almidón es de 15 % en peso a 35 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa, y antes de dicha trituración o molienda la fracción gruesa tiene una distribución de tamaño de partículas de al menos 75 % en peso que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, inferior o igual a 5 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de 15 % en peso a 25 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior o igual a 149 micrómetros, y la fracción gruesa se tritura o muele para obtener una fracción o componente de salvado triturado o molido teniendo al menos 40 % en peso de la fracción un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, y teniendo menos de o igual a 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros.
- 10
- 15 11. Un método según la reivindicación 10, en donde dicha fracción o componente de salvado triturado o molido tiene una distribución de tamaño de partículas de 0,5 % en peso a 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de 10 % en peso a 30 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual o más de 500 micrómetros, de 25 % en peso a 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros, de 25 % en peso a 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, e inferior o igual a 60 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando dichos porcentajes a un total de 100 % en peso.
- 20
12. Un método según la reivindicación 1, en donde la estabilización de la fracción gruesa es mediante calentamiento que evita la gelatinización sustancial del almidón contenido en la fracción gruesa.
- 25 13. Un método según la reivindicación 1, en donde la actividad de lipasa se reduce a menos de 3 micromoles de ácido libre de butirato formado por hora y por 0,1 gramos de la fracción gruesa estabilizada.
14. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha estabilización de la fracción gruesa evita un contenido de acrilamida superior a de 150 ppb, con respecto al peso de la fracción gruesa estabilizada.
- 30
15. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha estabilización comprende calentar a una temperatura de 100 °C a 140 °C.
- 35 16. Un método según la reivindicación 15, en donde dicha fracción gruesa que se somete a dicha estabilización tiene un contenido de humedad de 9 % en peso a 14 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
17. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha fracción gruesa comprende al menos 60 % en peso de salvado, y al menos 10 % en peso de germen, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 40 18. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha harina integral estabilizada es una harina de trigo integral estabilizada, una harina de maíz integral estabilizada, una harina de avena integral estabilizada, o una harina de arroz integral estabilizada.
- 45 19. Un método según la reivindicación 7, en donde dicho componente de salvado estabilizado es un componente de salvado de trigo estabilizado, un componente de salvado de maíz estabilizado, un componente de salvado de avena estabilizado o un componente de salvado de arroz estabilizado.
20. Un método según la reivindicación 7, en donde la cantidad de almidón es de 10 % en peso a 40 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa o de 10 % en peso a 40 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 50
21. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha harina integral estabilizada tiene una distribución de tamaño de partículas inferior a 10 % en peso sobre un tamiz de 500 micrómetros (estándar de los EE. UU. del n.º 35), de 20 % en peso a 40 % en peso sobre un tamiz de 250 micrómetros (estándar de los EE. UU. del n.º 60), de 10 % en peso a 60 % en peso sobre un tamiz de 149 micrómetros (estándar de los EE. UU. del n.º 100) e inferior a 70 % en peso a través de un tamiz de 149 micrómetros (estándar de los EE. UU. del n.º 100).
- 55
22. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha harina integral estabilizada tiene una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio-agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 85 %, un contenido de ácidos grasos libres inferior a 10 % en peso de los lípidos totales de la harina a los tres meses o inferior a 3000 ppm, con respecto al peso de la harina integral estabilizada, y un contenido de hexanal inferior a 10 ppm después de 1 mes de almacenamiento acelerado a 95 °C, con respecto al peso de la harina integral estabilizada.
- 60
- 65 23. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha harina integral estabilizada se produce de forma continua y dicha estabilización de la fracción gruesa se lleva a cabo en de 0,25 minutos a 12 minutos.

24. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha fracción gruesa es:
- 5 i) sometida a dicha trituración o molienda antes de dicha estabilización de la fracción gruesa; o
ii) sometida a dicha trituración o molienda después de dicha estabilización de la fracción gruesa.
25. Un método según la reivindicación 1, en donde la cantidad de almidón es de 15 % en peso a 35 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 10 26. Un método según la reivindicación 1, en donde antes de dicha trituración o molienda la fracción gruesa tiene una distribución de tamaño de partículas de al menos 75 % en peso que tiene un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, inferior o igual a 5 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior a 149 micrómetros, y de 15 % en peso a 25 % en peso que tiene un tamaño de partículas inferior o igual a 500 micrómetros pero superior o igual a 149 micrómetros, y la fracción gruesa se tritura o muele para obtener una fracción o componente de salvado triturado o molido teniendo al menos 40 % en peso de la fracción un tamaño de partículas superior o igual a 149 micrómetros, y teniendo menos de o igual a 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros, opcionalmente en donde dicha fracción o componente de salvado triturado o molido tiene una distribución de tamaño de partículas de 0,5 % en peso a 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de 10 % en peso a 30 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual a 500 micrómetros, de 25 % en peso a 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, e inferior o igual a 60 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando dichos porcentajes a un total de 100 % en peso.
- 15 27. Un método según la reivindicación 1, en donde dicha estabilización comprende calentar a una temperatura de 100 °C a 140 °C, opcionalmente
- 20 en donde dicha fracción gruesa que se somete a dicha estabilización tiene un contenido de humedad de 9 % en peso a 14 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 25 28. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida que comprende salvado, germen y almidón, siendo la cantidad de salvado al menos 50 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa, teniendo la fracción gruesa triturada:
- 30 a. una distribución de tamaño de partículas de al menos 40 % en peso de la fracción que tiene un tamaño de partículas de al menos 149 micrómetros, y teniendo menos de o igual a 35 % en peso un tamaño de partículas superior o igual a 500 micrómetros,
- 35 b. una actividad de lipasa inferior a 3 micromoles de ácido libre de butirato formado por hora por 0,1 gramos de la fracción gruesa,
- 40 c. un contenido de acrilamida inferior o igual a 150 ppb, con respecto al peso de la fracción gruesa,
- d. una entalpía de fusión de almidón superior a 4 J/g, con respecto al peso de almidón en la fracción gruesa triturada, medida mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), a una temperatura máxima de 65 °C a 70 °C, y
- 45 e. una capacidad de retención de disolvente carbonato de sodio-agua (SRC de carbonato de sodio) inferior a 200 %.
29. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida según la reivindicación 28, en donde la cantidad de almidón es de 15 % en peso a 35 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa
30. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida según la reivindicación 28, en donde dicha fracción o componente de salvado triturado o molido tiene una distribución del tamaño de partículas de 0,5 % en peso a 5 % en peso superior o igual a 841 micrómetros, de 10 % en peso a 30 % en peso inferior a 841 micrómetros pero superior o igual a 500 micrómetros, de 25 % en peso a 70 % en peso superior o igual a 149 micrómetros pero inferior a 500 micrómetros, e inferior o igual a 60 % en peso inferior a 149 micrómetros, totalizando dichos porcentajes a un total de 100 % en peso.
- 50 31. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida según la reivindicación 28, en donde dicha fracción gruesa comprende al menos 60 % en peso de salvado, y al menos 10 % en peso de germen, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 55 32. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida según la reivindicación 28, en donde dicho componente de salvado es un componente de salvado de trigo estabilizado, y la cantidad de almidón es de 10 % en peso a 40 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.
- 60 33. Una fracción gruesa tratada con calor triturada o molida según la reivindicación 28, en donde dicho componente de salvado es un componente de salvado de maíz estabilizado, un componente de salvado de
- 65

avena estabilizado, o un componente de salvado de arroz estabilizado, y la cantidad de almidón es de 10 % en peso a 40 % en peso, con respecto al peso de la fracción gruesa.

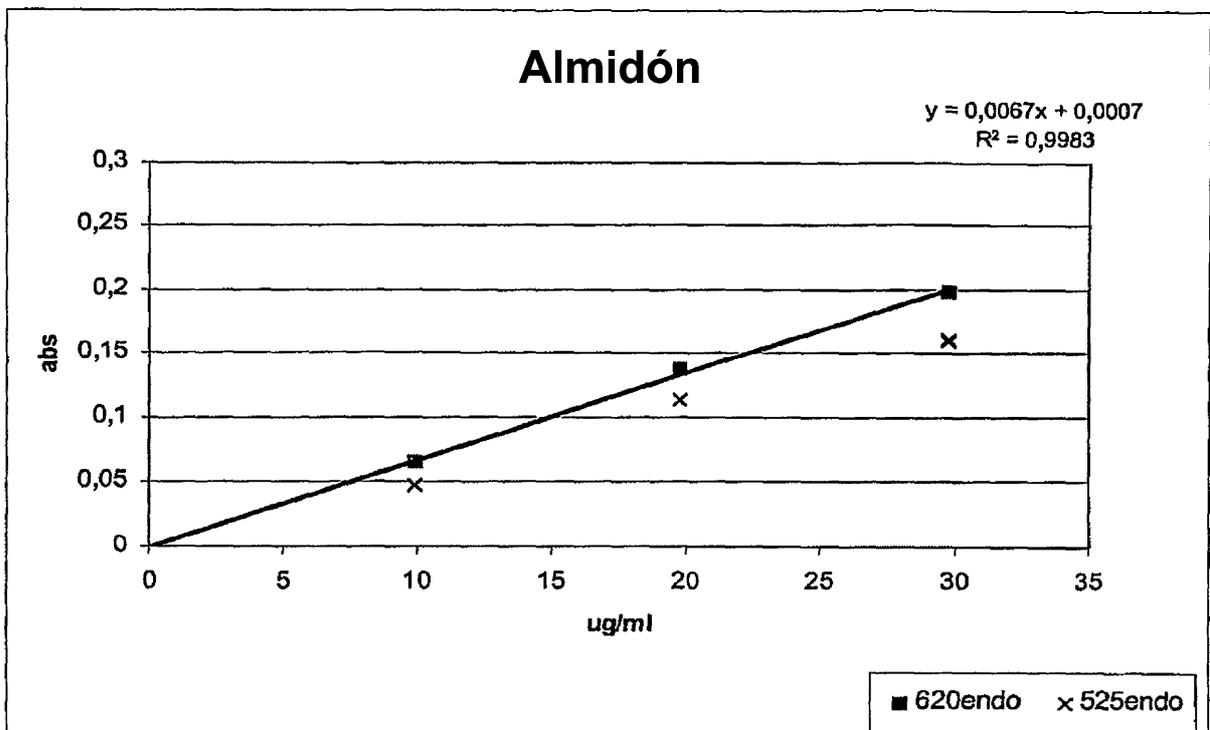


FIG. 1

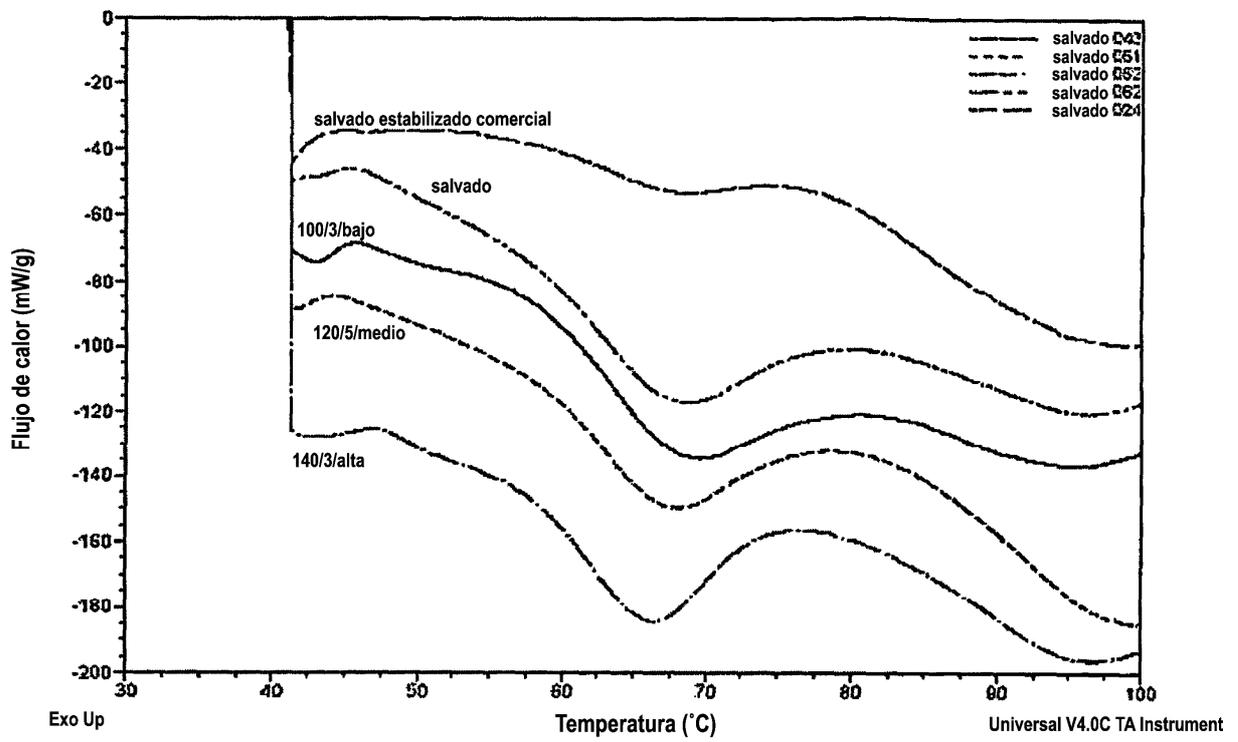


FIG. 2

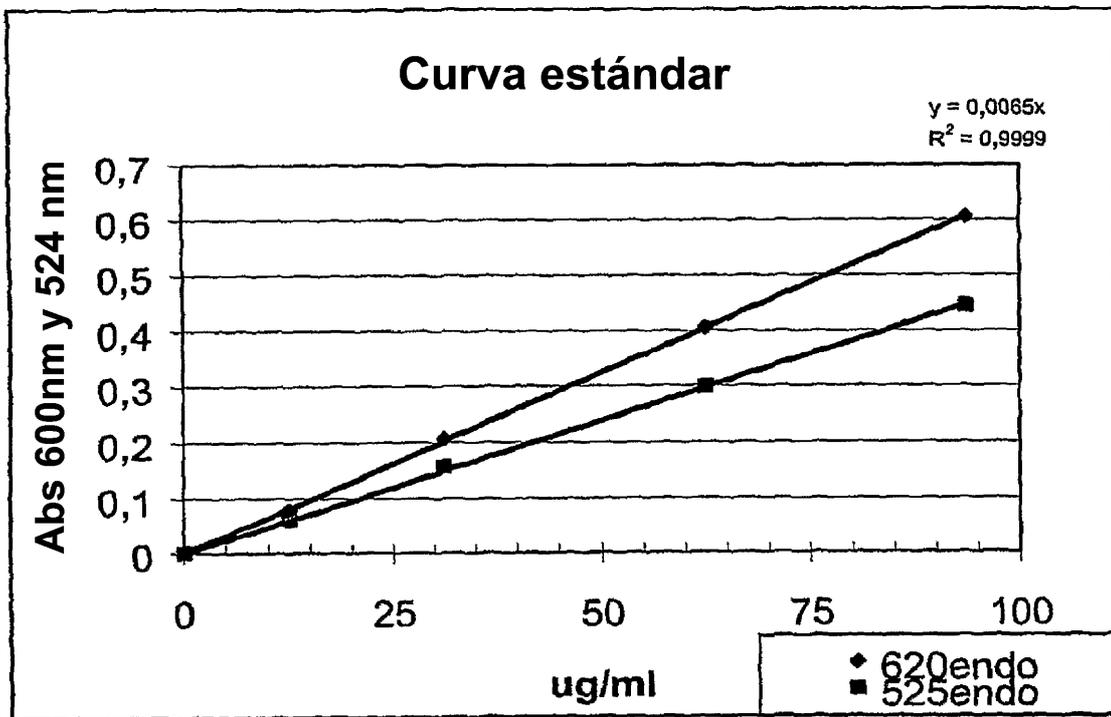
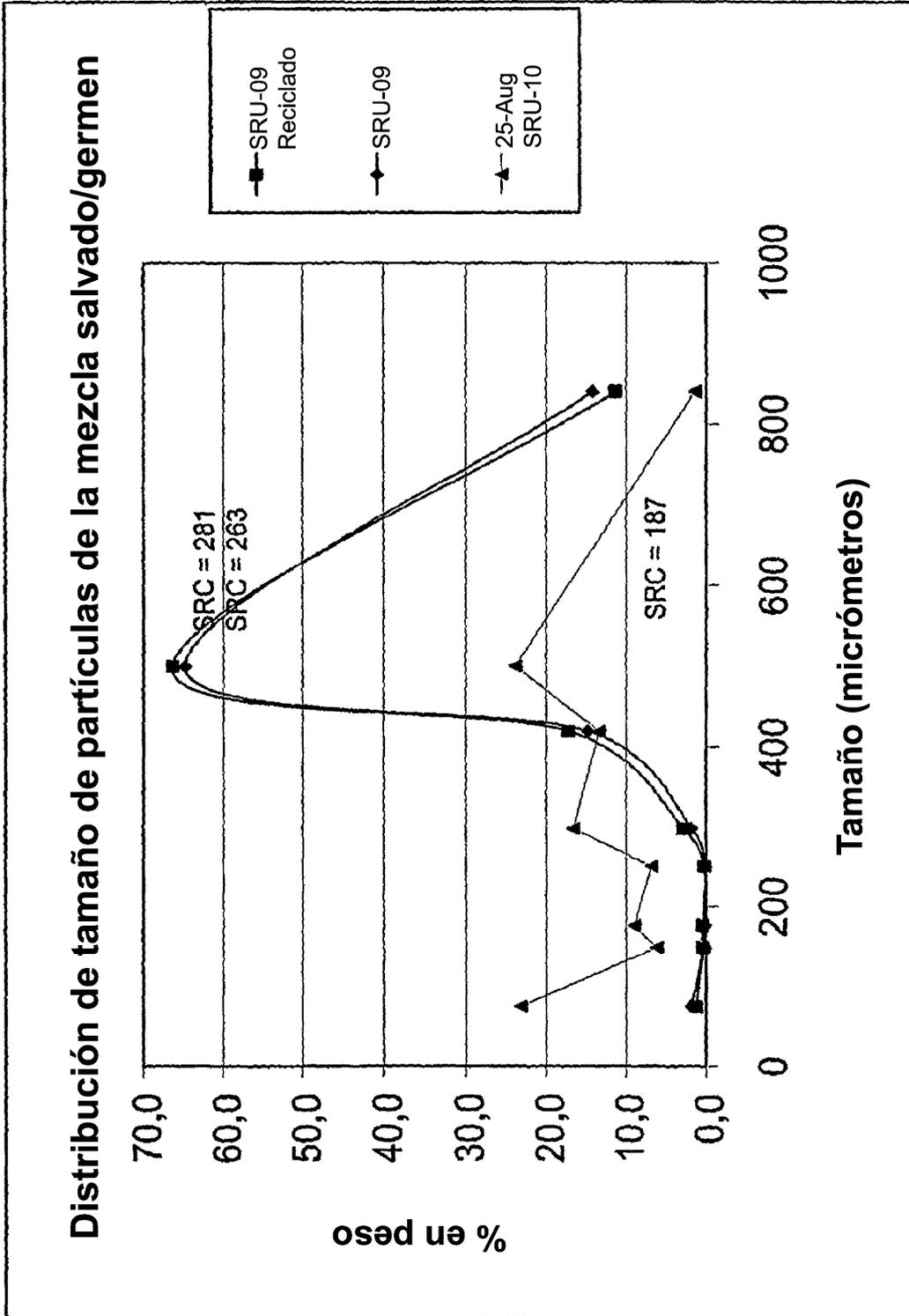


FIG. 3



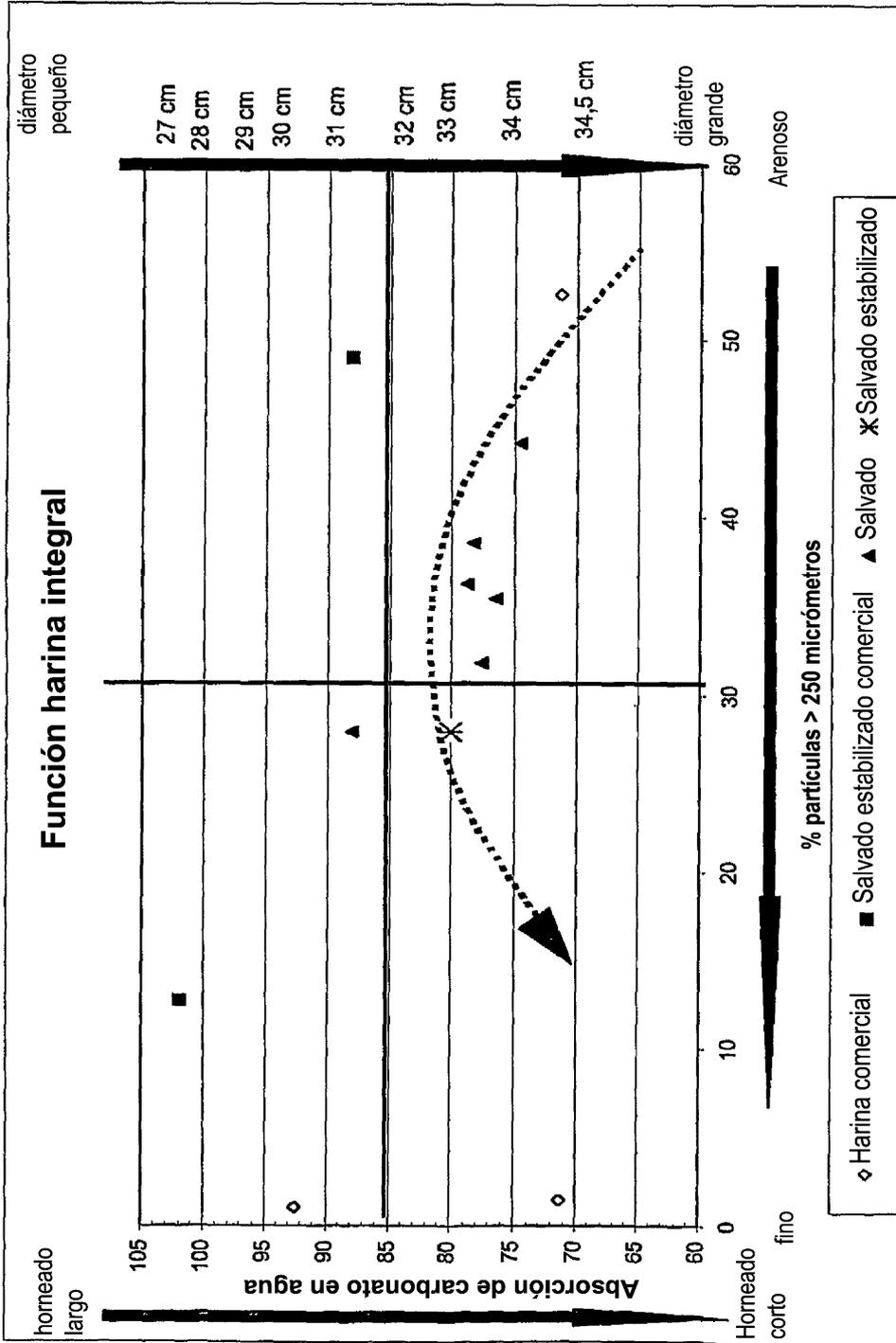


FIG. 5

FIG. 6

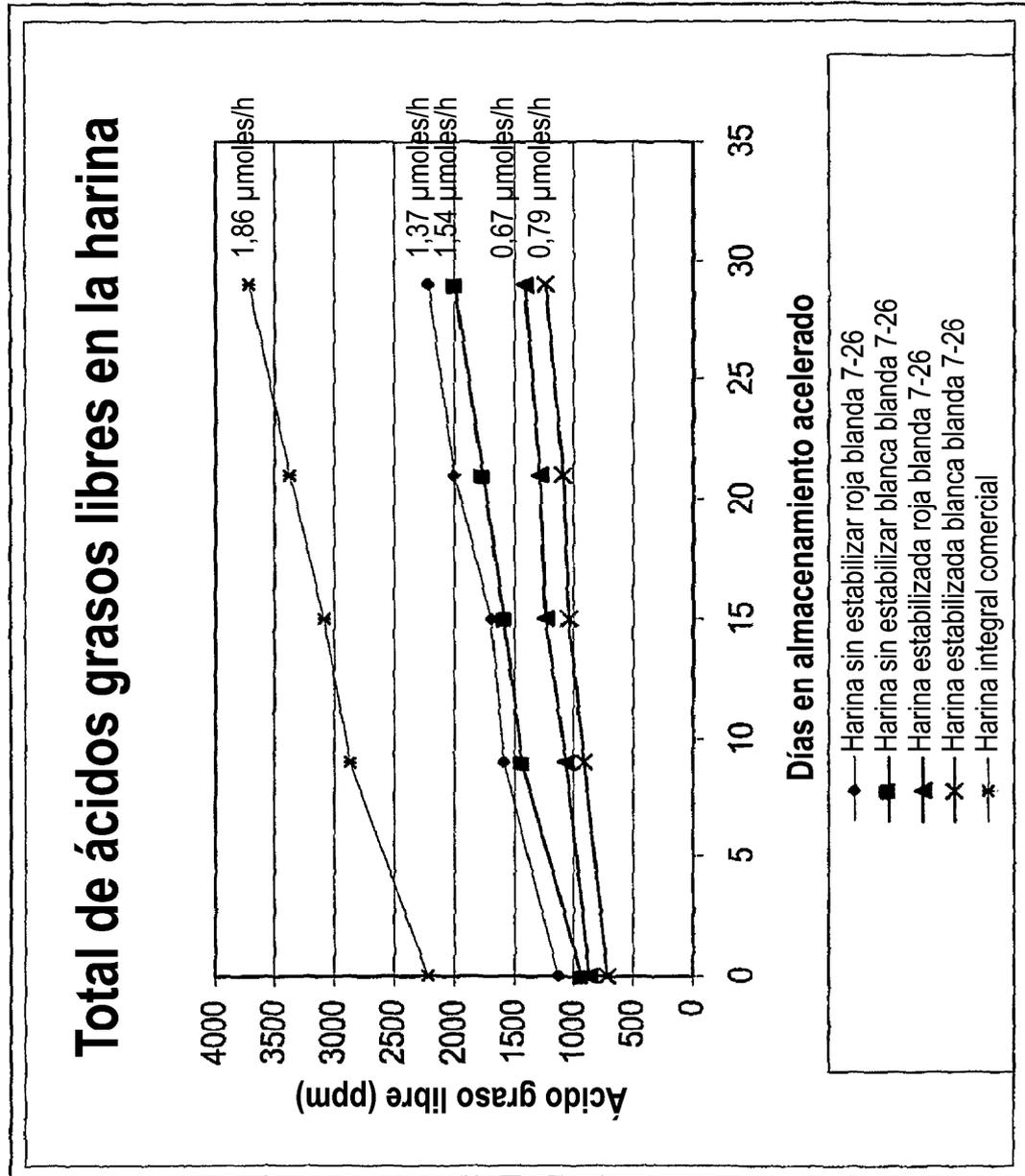


FIG. 7

